

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

LE PRINCIPE LYTIQUE TRANSMISSIBLE, DIT « BACTÉRIOPHAGE » DU BACILLE D'YERSIN

par L. COUVY, L. LAMBERT et V. DUFOUR.

RÉSULTATS DISCORDANTS, SUIVANT LES EXPÉRIMENTATEURS, DES ESSAIS DE PHAGOTHÉRAPIE DANS LA PESTE.

En 1929, l'un de nous (1) faisait à Dakar des essais thérapeutiques à l'aide d'un « bactériophage » antipesteux, isolé et cultivé sur place.

Les résultats avaient paru encourageants, puisque 21 malades, tous très graves, soumis à cette thérapeutique, avaient donné 15 guérisons, alors que les 124 malades traités par le sérum, au cours de la même période, accusaient un pourcentage de succès beaucoup plus faible et donnaient une mortalité de 65.33 p. 100, avec 81 décès.

À l'actif de la phagothérapie, nous relevions deux pestes septicémiques et une peste pulmonaire primitive.

À la suite de ces premières constatations, de nouvelles recherches s'imposaient, d'autant que les résultats enregistrés

(1) COUVY et POPOFF. *Bull. Soc. Path. Exot.*, juin 1930. COUVY. *Bull. Soc. Path. Exot.*, nov. 1930.

à Dakar se séparaient de ceux obtenus par la plupart des observateurs.

En effet, en dehors des trois observations de d'Hérelle (1) opérant à Alexandrie, avec un bactériophage de Cochinchine, nous ne relevons guère, comme favorables à la phagothérapie pesteuse, que les expériences de Harvey Pirie (2), lequel, sur un lot de 34 rats inoculés de bacilles d'Yersin, obtenait la guérison, dans un tiers des cas, par des injections répétées de bactériophage.

Flu (3) échoue dans ses essais de traitement du cobaye par la voie digestive et, chez les rats inoculés de peste, il n'obtient, par injections sous-cutanées d'un bactériophage spécifique, qu'une survie de courte durée.

La souche de d'Hérelle qui s'était montrée active à Alexandrie, transportée dans l'Inde, s'y montra inefficace; mêmes insuccès à Java, en 1928, entre les mains de van Lonkhuysen.

De son côté, Compton (4), expérimentant sur la souris, ne reconnaît au bactériophage aucune action curative.

Enfin, à Madagascar, les tentatives de traitement faites avec 2 souches de pestiphage, provenant l'une du laboratoire de d'Hérelle, l'autre de l'Institut Pasteur de Paris, ne donnent à Guilliny (5) que des résultats négatifs dans la peste pulmonaire.

A vrai dire, si le pouvoir thérapeutique du bactériophage a pu être mis en doute dans la peste, son action spécifique sur l'organisme ne saurait cependant être tenue pour absolument négligeable, puisque les expérimentateurs sont d'accord pour lui reconnaître une action protectrice réelle.

W. Doorenbos (6) constate en Egypte qu'une injection sous-cutanée de bactériophage est capable de protéger le rat contre des doses mortelles de bacilles pesteux. L'inoculation simultanée de bacilles d'Yersin et de bactériophage se traduit par une forme atténuée de la maladie, suivie de guérison dans

(1) D'HÉRELLE. In *Presse Médicale*, n° 44, octobre 1925, p. 1393.

(2) HARVEY PIRIE, In *South African Institut for Med. research*, t. IV, n° 25, décembre 1929, pp. 191-230.

(3) FLU. *Centralblat f. Bakt.*, 1929, p. 468 et 473 et *C. R. Soc. Biol.*, 1929, p. 837.

(4) COMPTON. *Journ. Inf. Dis.*, t. XLIII, novembre 1928.

(5) GUILLINY. *Marseille Médical*, décembre 1391.

(6) W. DOORENBOS. *Med. Tijdschr. v. Hyg. Microb. et Sérol.*, t. I, 1926, p. 278.

81 p. 100 des cas chez *M. Norvegicus*, et de 46 p. 100 chez *M. rattus*.

J. H. Harvey Pirie (1) signale que l'injection d'une dose unique de pestiphage, faite une, deux ou quatre semaines avant l'inoculation virulente, ne protège pas le rat; mais, par contre, un certain nombre d'animaux résiste à l'infection quand on inocule le bacille d'Yersin après plusieurs injections de bactériophage.

Nous ne retiendrons pas à l'actif du bactériophage les expériences de Compton (2) qui protège la souris, dans 40 p. 100 des cas, contre une inoculation pesteuse ultérieure, par 2 injections de bactériophage faites à six jours d'intervalle, et qui accuse un pourcentage de prémunitions de 67 p. 100 après 3 injections, et même 80 p. 100 lorsqu'il utilise un bactériophage formolé. Cet auteur (3) attribue l'action immunisante, non point au bactériophage dont l'élimination est rapide, mais à l'antigène mis en liberté par le phage spécifique.

Nous ne citerons également que, pour mémoire, les recherches de Flu (4) qui tendent vers des conclusions analogues. Cet auteur obtient, chez le rat, la protection, dans 95 p. 100 des cas, contre une inoculation de 40 doses mortelles de bacilles d'Yersin, et dans 26,3 p. 100 des cas, contre 400 doses mortelles, grâce à 3 injections préalables d'un lysat de bacilles, obtenu sous l'action d'un pestiphage.

Mais, l'intervention vaccinnante d'un antigène microbien ne semble pas pouvoir être invoquée dans les expériences de Morales Villazon (5). Cet observateur soumet des rats à une double inoculation; ces animaux reçoivent du pestiphage dans une cuisse et du bacille d'Yersin dans la cuisse opposée; les rats meurent, mais il est impossible de déceler de bacilles après la mort; ceux-ci ont été lysés et Villazon attribue la mort du rat à une endotoxine libérée par la lyse microbienne. Dans les mêmes conditions d'expérimentation, le cobaye résiste à plusieurs doses mortelles d'Yersin.

(1) J. H. HARVEY PIRIE. In *South Afric. Institut for Med. research*, t. IV, n° 25, décembre 1929, p. 191.

(2) COMPTON. *Journal Inf. Dis.*, t. XLIII, novembre 1928.

(3) COMPTON. *Journal Inf. Dis.*, t. XLVI, février 1930.

(4) FLU. *Loc. cit.*

(5) NESTOR MORALES VILLAZON. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, p. 754.

*
* *

Nous avons repris à Dakar, en 1934, nos recherches, interrompues en 1930; et nous apportons ici les constatations enregistrées, tant au laboratoire qu'au lit du malade.

NOUVELLES RECHERCHES SUR LE BACTÉRIOPHAGE DU BACILLE D'YERSIN.

A. — Recherches de laboratoire.

MATÉRIEL UTILISÉ.

1° SOUCHES MICROBIENNES. — Nous avons eu à notre disposition au cours de ces études 3 souches microbiennes :

La souche A (1), isolée d'un rat pesteux provenant de la banlieue immédiate de Dakar;

La souche B, fournie par un malade atteint de peste bubonique;

La souche C, isolée d'un bubon secondaire apparu chez un malade (obs. 26), préalablement traité par un bactériophage.

Nous référant aux travaux de Arkwright (2), de Kruif (3), de Gratia (4), nous avons cherché s'il était possible de différencier ces 3 souches et en particulier de les classer en type « Smooth » (convexes et lisses), ou « Rough » (plates, rugueuses), suivant la dissociation démontrée par ces auteurs pour les microbes du groupe *Coli*-typhique, pour les bacilles dysentériques, pour le bacille de la septicémie hémorragique du lapin, pour la bactériémie charbonneuse et pour le vibrion cholérique.

La mise en évidence de telles caractéristiques pour les

(1) Due à l'obligeance du D^r DURIEUX, de l'Institut Pasteur de Dakar.

(2) J. A. ARKWRIGHT. *Journ. Path. Bact.*, 1920, p. 358; 1931, p. 36; *British Journ. of exp. Path.*, t. V, 1924, p. 23.

(3) KRUIF. *Journ. exp. Med.*, 1924, p. 773.

(4) GRATIA. *C. R. Soc. Biol.*, 1924, p. 369.

souches de bacilles d'Yersin, préalablement à l'étude de leur comportement vis-à-vis d'un bactériophage, paraissait importante en raison de la relation étroite qui existerait entre l'action du phage et le type microbien en cause.

Au cours de ses recherches sur les bacilles du groupe *Coli*, Bordet (1), seul ou en collaboration avec Ciuca, montre qu'un bactériophage faible *anticoli* est susceptible de lyser le *B. coli* du type convexe et respecte le type plat, agglutiné. Ce principe faible opère ainsi une sélection, permet le développement d'un type microbien déterminé et facilite la prédominance de certaines variétés plus réfractaires; ces dernières qui se présentent sous l'aspect de colonies plates, étalées, ne seront attaquées que par un principe lytique fort.

De son côté, Hadley (2) constate que les bactéries présentent des formes « Smooth », sensibles à l'action du bactériophage, et des formes « Rough », résistantes, qui se reproduisent parallèlement à partir de souches assez diverses. Hadley admet également l'existence de formes intermédiaires. Les colonies du type « Rough » sont reproduites par l'action d'un principe lytique sur des cultures « Smooth ». Ces colonies « Rough » peuvent revenir spontanément à la forme originelle « Smooth ».

L'observation de nos trois souches de bacilles d'Yersin n'a pas mis en évidence de façon précise des caractères permettant de les classer dans l'un ou l'autre type. Au cours des repiquages successifs, partant soit de la souche primitive, soit de cultures secondaires développées à la suite de l'action incomplète d'un bactériophage, nous avons bien obtenu des colonies d'aspect assez différent, les unes paraissant plus plates, rugueuses, les autres lisses, convexes, mais ces caractères ont toujours paru essentiellement transitoires et n'ont pu être reproduits en série. Telle colonie qui paraissait répondre au type « Smooth » donnait, après repiquage, des colonies appartenant plutôt au type « Rough » et inversement.

Les caractères culturels se sont montrés strictement identiques pour les trois souches observées.

(1) BORDET et CIUCA. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, p. 366; BORDET. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, p. 987.

(2) PHILIP HADLEY. *Journ. of inf. Dis.*, avril 1928, p. 263-434.

2° LES SOUCHES DE BACTÉRIOPHAGE. — Le bactériophage, souche *M. T.*, qui a servi de point de départ à ces études, avait été isolé à Dakar, le 8 avril 1930, des selles d'un malade adulte, convalescent de peste bubonique.

Le filtrat de selles avait été préparé suivant la technique décrite dans une note précédente(1) et empruntée à d'Hérelle.

Le bactériophage ainsi isolé se montrait très actif d'emblée pour les souches locales de bacilles d'Yersin, en notre possession à cette époque, qu'il lysait entièrement en moins de deux heures, sans culture secondaire, dès le premier passage.

Cette souche fut conservée en ampoules à la température du laboratoire de Dakar jusqu'en décembre 1930 ; à cette date, M. Dujardin-Beaumetz voulut bien en recevoir un échantillon pour contrôle. La virulence s'était conservée intacte ; en février et en mars, M. Dujardin-Beaumetz, l'éprouvant sur une souche de bacilles d'Yersin de son laboratoire, provoquait la lyse totale en bouillon en moins de deux heures et obtenait, sur gélose, des plages de 7 à 8 millimètres de diamètre, en ayant soin d'employer de fortes émulsions microbiennes pour éviter la lyse totale à la surface de la gélose (2).

LA RÉACTION ALCALINE DES SELLES DE CONVALESCENTS EST UNE CONDITION INDISPENSABLE DE LA PRÉSENCE DU BACTÉRIOPHAGE DANS CES SELLES.

Nous avons remarqué, au cours de nos expériences antérieures, la faible proportion de convalescents de peste susceptibles de fournir un bactériophage actif vis-à-vis du bacille d'Yersin : en 1929, il ne fut trouvé que trois souches très

(1) Une parcelle de matières fécales est intimement mélangée à 20 fois environ son volume de bouillon ordinaire, de pH 7-8. Le mélange est maintenu vingt-quatre heures à l'étuve à 37°, filtré sur bougie Chamberland L 5, puis, après un nouveau séjour de quarante-huit heures à l'étuve, soumis à une seconde filtration et mis en ampoules ou en tubes (Couvry, *Bull. Soc. Path. Exot.*, novembre 1930).

(2) Qu'il nous soit permis de remercier ici M. Dujardin-Beaumetz du bienveillant intérêt qu'il a porté à nos recherches, de l'aide si utile qu'il nous a prodiguée, ainsi que de ses précieux encouragements.

Il a bien voulu entretenir à son laboratoire, depuis le mois de janvier 1931, la souche de pestiphage *M. T.*, recueillie à Dakar en 1930, et faire préparer à notre intention de nombreuses ampoules de ce produit.

actives et quatre d'activité moyenne sur plus de vingt prélèvements. Trois souches seulement furent isolées en 1930; l'une active (la souche M. T.) et les deux autres d'activité moyenne.

Par ailleurs, il était apparu que le même individu était susceptible de fournir, à quelques jours d'intervalle, des filtrats de selles totalement dépourvus de bactériophage ou, au contraire, riches en principe très actif : tel malade, convalescent depuis le 12 juin, donne un bactériophage actif le 22 juin et le 8 juillet, alors que les prélèvements faits le 21 et le 28 juin, dans les mêmes conditions, en sont totalement dépourvus.

Nous nous sommes demandé si les causes de cette alternance ne pourraient pas s'expliquer par les variations de la réaction acide ou alcaline des selles.

Et, en effet, sur une dizaine de selles provenant de malades différents, neuf présentaient une réaction franchement acide, au moment de l'émission, avec un pH voisin de 6,4 et ne contenaient aucun principe lytique. Une seule fois, les selles avaient un pH de 7,2 et ce furent les seules où le bactériophage fut décelé.

SERAIT-IL POSSIBLE, PAR UNE TECHNIQUE PLUS SENSIBLE QUE LES MÉTHODES CLASSIQUES, DE METTRE EN ÉVIDENCE UN BACTÉRIOPHAGE VIRULENT, MAIS PEU ABONDANT ?

Dans une autre série d'expériences, nous avons cherché un procédé qui permettrait de mettre en évidence un bactériophage que les méthodes classiques d'isolement auraient laissé échapper.

Des recherches précédentes nous avaient montré, en 1929, qu'il était possible d'exalter la virulence d'un principe lytique très faiblement actif, contenu dans des selles, en portant directement dans un tube de filtrat de ce produit une culture jeune de bacilles.

Nous avons repris ces essais en partant d'un filtrat de selles de convalescent de peste, qui s'était montré primitivement inactif en bouillon sur des cultures jeunes, et dans lequel il était par suite légitime de conclure à l'absence totale de bacté-

riophage. Or, l'addition progressive à ce filtrat de bacilles jeunes s'est révélée capable d'y déceler la présence d'un principe lytique et de l'y développer, au point qu'il a pu, par la suite, lyser entièrement et sans cultures secondaires une culture abondante de vingt-quatre heures sur bouillon.

EXPÉRIENCE. — V. C..., convalescent de peste bubonique. Selles recueillies le 23 mai, filtrées sur bougie L 5 et conservées en tubes bouchés au coton.

Le 24 juillet, ce filtrat est essayé sur les trois souches de bacilles d'Yersin : A, B, C. Dans ce but, un tube de bouillon reçoit un centimètre cube de filtrat, puis est légèrement ensemencé avec une jeune culture de vingt-quatre heures sur gélose, émulsionnée avec soin.

La culture se produit, abondante et sans aucun retard, dans chacun des trois tubes.

Le filtrat doit donc être considéré comme indemne de phage.

Le 28 juillet, trois nouveaux tubes du filtrat, les tubes I, II, III, sont largement ensemencés, respectivement, avec les trois souches microbiennes A, B, C.

Le tube III seul cultive; les deux premiers ne présentant aucune modification apparente.

Le 30 juillet, les tubes I et II sont additionnés chacun de deux anses du bacille correspondant.

Tous les éléments microbiens sont lysés en moins de cinq heures et les tubes ne présentent aucune trace de culture. Ils demeureront stériles par la suite.

Le 2 août, on inocule II gouttes de filtrat ainsi traité dans une culture de vingt-quatre heures en bouillon, très abondante. La souche A reçoit du filtrat I; la souche B du filtrat II.

La lyse est complète en moins de deux heures pour le premier tube, en trois heures pour le second.

Cette activité vis-à-vis des deux souches microbiennes A et B s'est maintenue au cours de passages en série (trois passages).

Il semble donc que cette technique ait permis de mettre en évidence un bactériophage virulent, mais trop peu abondant pour se manifester suivant les procédés habituels.

Cette constatation peut, semble-t-il, être rapprochée de cette remarque d'Asheshov (1) que trois introductions successives de bactéries (*B. Flexner*) dans un tube contenant une culture incomplètement lysée par un bactériophage arrivent à clarifier le liquide, alors que le tube témoin, contenant le mélange culture et phage, reste trouble et contient des éléments plus ou moins résistants.

(1) ASHESHOV : *Soc. Biol.*, Belgrade, 6 novembre 1923, in *C. R. Soc. Biol.*, 93, p. 1329.

ETUDE COMPARATIVE DE L'ACTION DE SOUCHES DIFFÉRENTES DE PESTIPHAGES SUR DES SOUCHES DIVERSES DE BACILLES D'YERSIN. INDIVIDUALITÉ DES VARIÉTÉS DE PHAGES DÉMONTRÉE PAR LEUR ACTION « IN VITRO ».

Nous avons étudié parallèlement l'action sur les souches locales de bacilles d'Yersin des différentes souches de pestiphage en notre possession.

Nous nous sommes attachés à n'utiliser pour ces recherches que des bacilles ayant subi très peu de passages sur milieu artificiel, chaque ensemencement partant de la souche originelle.

Nos expériences se sont poursuivies :

1° Sur un échantillon, conservé à Dakar, de la souche M. T. isolée le 8 avril 1930;

2° Sur les variétés dérivées de cette souche initiale et préparées au laboratoire de M. Dujardin-Beaumetz, qui voulut bien nous faire 4 envois successifs :

a) Phage 1, février 1931;

b) Phage 2, mai 1931;

c) Phage 3, juin 1931;

d) Phage 4, juillet 1931.

3° Sur une souche V. C., isolée le 25 mai 1931.

Elles n'ont pu porter sur un pestiphage dû à l'obligeance de M. d'Hérelle qui avait bien voulu faire parvenir à Dakar, en septembre 1930, un bactériophage de son laboratoire, préparé sur des souches microbiennes Cambodge et Inde. Ce bactériophage, essayé à plusieurs reprises au début de 1931, s'est montré inactif pour nos souches locales.

LES DIVERSES SOUCHES DE PESTIPHAGE SE SÉPARENT NETTEMENT D'APRÈS LEUR ACTION SUR LES DIFFÉRENTES SOUCHES DE BACILLES D'YERSIN.

1° Le filtrat M. T. s'est montré absolument inactif sur la souche A; il provoque la lyse complète de la souche B en quatre heures et celle de la souche C en une heure quarante-cinq.

2° Les variétés 1, 2, 3 et 4, issues du filtrat M. T., et cultivées avec des souches microbiennes étrangères, ont une action sensiblement différente :

Le phage 1 est actif pour les 3 souches A, B, C;

Le phage 2 est absolument inefficace pour A et B et peu actif pour C;

Le phage 3 est actif vis-à-vis de A et de B, sans action sur C;

Le phage 4 est monovalent pour la souche B.

Les phages 1 et 3 ont donc acquis (ou développé) la propriété de lyser la souche A, qui n'était pas atteinte par le filtrat d'origine.

Les phages 3 et 4 ont perdu la propriété de lyser la souche C.

3° La souche V. C. contient un phage actif pour A et B, sans action sur C.

	SOUCHES MICROBIENNES		
	A	B	C
Souche M. T.	0	+++	++++
Phage 1	+++	+++	++
Phage 2	0	0	+ C. S.
Phage 3	++++	+++	0
Phage 4	0	++++	0
Souche V. C.	+++	+++	0

(La lyse est totale dans tous les cas marqués de plusieurs +; le nombre de + marque la rapidité de la lyse; le signe + C. S. indique lyse incomplète avec culture secondaire).

On pouvait donc admettre que les échantillons de phage se comportaient différemment suivant les souches de bacilles avec lesquelles on les mettait en présence.

Cette constatation, si elle pouvait paraître normale pour des phages d'origines différentes, semblait plus inattendue de la part d'échantillons provenant d'une même souche.

Cette transformation dans la valence des bactériophages peut-elle être rapprochée des faits observés par Sertic (1) au cours de ses travaux en vue de l'adaptation d'un bactériophage sur les formes microbiennes de cultures secondaires? Cet auteur

(1) SERTIC. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 105, 1930, p. 499.

constate que, à la suite des passages successifs aux dépens de la forme secondaire correspondante, le bactériophage, tout en exaltant sa virulence pour cette forme secondaire, est susceptible de perdre son activité pour la souche sensible primitive.

LE BACTÉRIOPHAGE DE LA PESTE EST DONC SUSCEPTIBLE DE SUBIR DES VARIATIONS DANS SES APTITUDES A LA LYSÉ, SUIVANT LES SOUCHES MICROBIENNES SUR LESQUELLES IL EST ENTRETENU.

Nous avons cherché à déterminer si les propriétés lytiques ainsi constituées, sans doute par suite de l'intervention de souches microbiennes différentes au cours de leur préparation, ne seraient pas transitoires et susceptibles d'être modifiées par culture sur des souches locales. Par exemple, le phage 3 ne s'adapterait-il pas sur la souche microbienne C qui est demeurée sensible à l'action du filtrat M. T. ?

Nos tentatives dans ce sens sont demeurées infructueuses : l'addition progressive d'une culture de souche C dans un tube de ce phage 3 n'a mis en évidence aucun pouvoir lytique vis-à-vis de cette souche microbienne. Par ailleurs, expérimentant sur deux lysats de ce phage 3 qui, à la suite d'additions successives de bacilles des souches A et B, avaient acquis une virulence exaltée vis-à-vis de ces deux souches, nous avons constaté que ce lysat, si fortement actif sur les souches A et B, continuait à se montrer absolument sans action sur la souche C.

EXPÉRIENCE. — *Le 22 juillet* : deux tubes de bouillon (I et II) reçoivent chacun 3 cent. cubes de phage 3 ; II gouttes de mélange se montrent actives pour les souches microbiennes A et B qui sont lysées respectivement en deux heures quinze et trois heures.

Le tube I reçoit quelques gouttes d'une émulsion de la souche A ; le tube II quelques gouttes de la souche B : pas de culture.

Le 24 juillet : Deuxième ensemencement dans les 2 tubes avec la souche correspondante. Pas de culture.

Le 28 juillet : Chaque tube reçoit une anse de platine d'une culture jeune sur gélose. Lyse totale.

Le 30 juillet : Addition de 2 anses de platine dans chaque tube. La lyse est complète en quelques heures. Pas de culture secondaire.

Le 3 août : II gouttes du lysat I sont inoculées à un tube de bouillon contenant une culture de vingt-quatre heures de la souche A. Une culture de souche B reçoit II gouttes de lysat II.

La lyse de ces deux cultures est complète en une heure un quart.

Le 4 août : X gouttes de chacun des lysats I et II, ainsi exaltés vis-à-vis de A et B, sont portées sur un tube ensemencé avec la souche C. La culture se développe normalement.

La souche C semble donc se séparer nettement des souches A et B.

Mentionnons qu'elle a été isolée d'un bubon secondaire survenu chez un malade après traitement par le phage n° 3 (observation 27), et que ce bubon secondaire fut heureusement influencé par l'administration du phage n° 1, qui devait se montrer par la suite très actif *in vitro* pour cette souche microbienne C.

Nous nous sommes demandé, d'autre part, s'il ne serait pas possible d'adapter le phage M. T. à la souche microbienne A ?

Même insuccès de ce côté : l'exaltation de la virulence de M. T. ne s'exerce que vis-à-vis des souches B et C, dont la lyse peut être assurée en une heure trente, alors que la souche A demeure absolument indifférente vis-à-vis de ce principe lytique d'activité renforcée pour les deux autres virus.

Cette souche A se différencie donc des deux autres au point de vue de l'aptitude à la lyse.

LA CULTURE D'UN PHAGE, SUR UNE SOUCHE MICROBIENNE UNIQUE, EXALTE LA VIRULENCE VIS-A-VIS DE CETTE SOUCHE, MAIS PEUT ENTRAÎNER UNE PERTE COMPLÈTE D'ACTIVITÉ VIS-A-VIS D'AUTRES SOUCHES PRÉCÉDEMMENT LYSÉES.

Par ailleurs, recherchant les conditions dans lesquelles des passages successifs sur une unique souche microbienne seraient susceptibles de modifier la virulence d'un bactériophage polyvalent, nous avons constaté que cette virulence était exaltée seulement vis-à-vis de la souche microbienne utilisée pour les passages, alors que son activité sur les autres souches demeurerait inchangée, ou même faiblissait dans des proportions parfois importantes.

EXPÉRIENCE. — Le phage 3, qui lyse les souches A et B en un temps sensiblement égal (de trois heures à trois heures trente), subit quatre passages sur la souche B; après ces passages la souche B est lysée en une heure ou une heure un quart, alors qu'il faut cinq heures pour obtenir une lyse complète de A, lyse qui sera du reste suivie d'une culture secondaire.

Cette expérience apporte en outre un argument de plus en faveur de l'individualité des virus A et B, quant à leur aptitude à la lyse.

∴

Nos trois souches microbiennes en expérience, A, B, C, se comportent donc différemment vis-à-vis des bactériophages; de même, chacun des principes lytiques étudiés possède des caractères particuliers, originels ou acquis après culture, qui se manifestent par leur aptitude exclusive à lyser telle ou telle souche microbienne. L'une de ces variétés de phage est monovalente : le phage 4 actif sur la souche B seule; deux autres, les phages 3 et V. C., sont actives sur les souches B et C; et enfin le phage 1 s'est montré polyvalent pour nos trois virus avec prédominance d'action sur A et sur B.

Ces constatations nous paraissent intéressantes à un double titre :

1° Elles donnent peut-être l'explication d'incidents qui nous avaient troublés au début de notre travail, en 1929 : Nous remarquons parfois que tel bactériophage, cultivé en série sur une souche microbienne déterminée, et montrant vis-à-vis de cette souche une activité manifestement exaltée, paraissait subitement inefficace lorsqu'une parcelle de ce principe ultravirulent était mise en contact avec une autre souche de bacilles. Nous expliquions alors la perte de virulence par une faute de technique; peut-être avons-nous simplement affaire à un bactériophage monovalent.

2° Elles méritent d'être rapprochées des explications de d'Hérelle (1), relatives aux conditions sous lesquelles une race de bactériophage s'atténue en culture; il attribue cette atténuation à des causes fortuites.

« Ce qui montre bien que l'atténuation en culture est accidentelle, c'est que l'un de nous a fourni à un grand nombre de laboratoires d'Europe et d'Amérique une race de Bactériophages virulents pour diverses bactéries, et particulièrement pour le bacille dysentérique. Or, après sept ou huit ans en culture dans les différents laboratoires, les caractères de

(1) D'HÉRELLE. *Etudes sur le choléra*, Alexandrie, 1929, p. 105.

« la souche de chaque laboratoire différent de ceux des sources
« conservées dans les autres laboratoires. En ce qui concerne
« la virulence pour bacille dysentérique, la souche conservée
« par l'un de nous s'est maintenue intacte ; il est de même
« pour d'autres laboratoires, mais dans d'autres elle est devenue
« presque avirulente. Et pourtant, à l'origine, c'était la même
« souche. Il en a été de même pour la souche de bactériophages connue sous le nom de « souche Gratia » virulente
« pour les staphylocoques. Cette race de Bactériophages a été
« distribuée dans de nombreux laboratoires ; sa virulence s'est
« maintenue dans certains, dans d'autres, elle s'est plus ou
« moins atténuée. »

Les variations subies par notre race M. T., à la suite de sa culture au laboratoire de M. Dujardin-Beaumetz, semblent comparables à celles qu'ont présentées la race de phage anti-dysentérique du laboratoire de d'Hérelle et la souche Gratia, à la suite de leur culture dans divers laboratoires, et nous sommes tentés de penser que ces variations des propriétés du phage sont fonction de la race bactérienne utilisée pour son entretien.

D'autre part, au cours de nos essais de traitement, il nous est arrivé de constater que tel lysat, d'une activité particulièrement exaltée par des passages successifs sur une souche bactérienne déterminée, se montrait absolument sans action chez certains malades, alors que, chez le même individu, l'administration ultérieure du même principe lytique, simple filtrat, vierge de tout passage sur bacilles, amenait une guérison rapide (1).

Nous en tirons la conclusion que les longues séries de passage au laboratoire doivent être évitées pour la préparation des bactériophages thérapeutiques.

En constatant par la suite que le comportement d'un bactériophage est susceptible de variations suivant les souches microbiennes mises à son contact, nous étions logiquement conduits vers une explication plausible de ce fait d'observation.

(1) Signalons en passant que cette possibilité d'une action thérapeutique, de la part d'un filtrat, avant tout contact *in vitro* avec des bacilles, ne s'accorde pas avec l'hypothèse de Compton et de Flu qui attribuent l'action thérapeutique des lysats, non point à l'activité propre du bactériophage, mais bien à la présence d'antigène (Compton. *Journ. Inf. Dis.*, 46, février 1909; Flu. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, p. 837).

Notre opinion primitive fait place à une interprétation nouvelle et il est permis de se demander si, dans le cas précédent, nous n'avions pas affaire à un filtrat, primitivement polyvalent, qui, au cours de ses passages successifs sur une souche microbienne unique, aurait vu disparaître sa polyvalence et perdu ainsi toute action précisément sur le bacille en cause chez le malade.

L'INDIVIDUALITÉ DES VARIÉTÉS DE PESTIPHAGE EST ÉGALEMENT CONFIRMÉE PAR LEUR ACTION « IN VIVO » : LE POURCENTAGE DES SUCCÈS THÉRAPEUTIQUES EST FONCTION DE LA POLYVALENCE « IN VITRO » DU PRODUIT UTILISÉ.

Tous ces faits permettent de conclure à l'individualité des pestiphages, correspondant à l'individualité des souches microbiennes utilisées pour leur culture.

Déjà, pour Bruynoghe et Appelmans (1), il y aurait plusieurs bactériophages pour le bacille typhique.

De son côté, Dutton (2) décrit 6 types de streptocoques, différenciés par la manière dont ils se comportent vis-à-vis d'un phage antistreptococcique.

Enfin, Gratia et Marcel de Namur (3), puis Gratia seul (4), étudiant les principes lytiques du staphylocoque, décrivent un principe à petites plages, à champ d'action très étendu, actif sur tous les staphylocoques pathogènes ou saprophytes. À côté de ce principe polyvalent, rare puisque Gratia ne le rencontre que cinq fois sur 17 souches examinées, il existe un autre principe comprenant la majorité des staphyphages (12 sur 17), qui groupe des phages à larges taches, très actifs également, mais monovalents.

L'action spécifique du sérum antiphage révèle en outre des différences individuelles, non seulement entre les deux principes polyvalent et monovalent, mais encore entre chacune des souches expertisées.

En ce qui concerne le bactériophage de la peste, nous n'avons

(1) BRUYNOGHE. *C. R. Soc. Biol.*, 1921, p. 112; BRUYNOGHE et APPELMANS. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, p. 96.

(2) L. C. DUTTON. *Journ. Inf. Dis.*, juillet 1926, p. 48.

(3) GRATIA et MARCEL DE NAMUR. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, p. 99 et 365.

(4) GRATIA. *Ces Annales*, janvier 1931, juin 1931.

pu le soumettre à l'épreuve des sérums antiphages correspondants. Il nous manque ce test important; mais les constatations cliniques, non moins importantes, sont venues confirmer les données du laboratoire, et plaident de leur côté en faveur de la pluralité et de la spécialisation assez étroite des bactériophages vis-à-vis des souches microbiennes.

L'individualité du pestiphage doit avoir comme conséquence logique, que son action thérapeutique sera subordonnée, non seulement à sa virulence, mais encore à son adaptation précise pour le virus en cause chez le malade traité. Par suite, une souche polyvalente aura plus de chance d'être active *in vivo* qu'une souche monovalente, même très virulente.

C'est précisément ce que nous montrent les observations cliniques recueillies en 1931 :

Le phage 2, monovalent, donne 1 succès sur 5.

Le phage 3, bivalent, donne 5 succès sur 10.

Le phage 4, trivalent, donne 13 succès sur 18.

Pour des motifs identiques, l'administration simultanée de plusieurs bactériophages, respectivement actifs pour des souches microbiennes différentes, et mélangés de façon à constituer un produit trivalent, devra donner des résultats thérapeutiques comparables à ceux obtenus avec une variété de phage unique, naturellement trivalent et actif sur les mêmes souches microbiennes.

Et, en effet, un tel mélange de plusieurs phages à action complémentaire a donné 68 p. 100 de guérisons, chiffre très voisin de celui obtenu avec le phage 4, trivalent (72 p. 100).

Nous étions ainsi conduits logiquement à poursuivre la préparation d'un produit polyvalent en vue de son utilisation thérapeutique exclusive.

Notre expérimentation ne portant que sur trois souches microbiennes, l'activité des phages n'était contrôlée que vis-à-vis de ces trois souches.

La trivalence du produit utilisé était obtenue par le mélange, au moment de l'emploi, de plusieurs bactériophages d'activité connue vis-à-vis d'une ou deux souches microbiennes. On a utilisé dans ce but le phage 4, réactivé sur souches B et C; le phage 3, actif pour A et B; le phage 2, monovalent pour la souche B; le phage M. T., réactivé sur souche C.

La série de malades traités par un phage trivalent, ainsi constitué, comprend 5 pestes septicémiques avec 4 guérisons (obs. 33, 39, 42, 52).

Par ailleurs, si nous admettons la notion de la spécialisation du bactériophage, et de sa spécificité étroite vis-à-vis des diverses souches microbiennes, nous sommes amenés à supposer qu'un malade, traité sans succès avec un phage non adapté au virus en cause, pourra bénéficier de l'administration ultérieure d'une autre variété de phage, active pour ce virus.

C'est ce que vérifient sept observations, dans lesquelles phage 1 complète efficacement l'action de phage 2 (cinq fois) [obs. 15, 16, 17, 18, 19] ou de phage 3 (deux fois) [obs. 25, 27] ; deux observations (obs. 20 et 21) dans lesquelles, réciproquement, phage 2 supplée à l'inefficacité de phage 1 ; une observation (obs. 32) où l'intervention d'un principe actif pour la souche C est nécessaire pour amener la défervescence que n'avaient pu obtenir des phages actifs pour A et B ; également une observation (obs. 53) où la guérison est due à un principe actif pour la souche A, après échec d'un phage monovalent pour B.

Donnons à ce sujet notre observation 27 (que l'on retrouvera résumée plus loin) parce qu'elle emprunte une précision particulière au contrôle bactériologique réalisé.

Rappelons que le phage 3, dont deux injections n'avaient pas

G. G..., sept ans, malade depuis trois jours avec agitation et délire, est apporté à l'hôpital, le 11 juillet, dans le coma, porteur d'un bubon inguinal volumineux, riche en bacilles d'Yersin ; température de l'après-midi, 40° ; pouls, 140.

Les 11 et 12 juillet, injection de phage 3.

Le 13 juillet, la température tombe à 37°7 le matin, pour remonter à 38°8 dans la soirée. L'état général est très amélioré, le bubon moins douloureux.

Le 14, la température atteint 40° le matin, avec aggravation nette de l'état général ; il est fait une injection sous-cutanée de phage 1. La température baisse presque aussitôt : 39°5 à 16 heures, pour atteindre 37°8 le lendemain matin.

Le 16, nouvelle poussée thermique accompagnant l'apparition d'un *bubon secondaire*.

Seconde injection de phage 1 dans la matinée du 16.

Le 17, la défervescence s'amorce, l'état du malade cesse d'être inquiétant. Guérison rapide.

Le bubon primitif, fluctuant, est incisé et se cicatrise en six jours. Le bubon secondaire se résorbe.

Une ponction du bubon secondaire, faite le 16, avant la deuxième inoculation de phage 1, donne une culture pure qui constituera la souche C.

empêché une rechute grave, devait se révéler par la suite inactif *in vitro* pour la souche C, alors que le phage I, qui a amené la guérison après deux injections, devait se montrer virulent pour cette même souche.

L'ACTION CURATIVE D'UNE VARIÉTÉ DE PHAGE EST SOUS LA DÉPENDANCE STRICTE DE SA SPÉCIFICITÉ POUR LA SOUCHE MICROBIENNE EN CAUSE CHEZ LE MALADE.

On pouvait se demander, d'une façon générale, si l'action plus constante d'un phage polyvalent ne serait pas due seulement à son efficacité particulière sur une souche microbienne résistante, telle que, dans l'observation 27, la souche C, issue d'un bubon secondaire. Dans ce cas, il suffirait qu'un phage se montre virulent vis-à-vis de cette souche C pour suppléer thérapeutiquement tous les autres.

Cette hypothèse ne s'est pas vérifiée.

C'est ainsi que le malade de l'observation 29, non influencé par un bactériophage très actif pour les souches B et C, fait une défervescence rapide à la suite de l'inoculation d'un produit trivalent.

De même, l'observation 31 se rapporte à un malade qui a reçu le 2 août un phage actif pour les souches A et B, le 3 août un phage actif pour la souche A et de *virulence exaltée vis-à-vis de la souche C*. Il fait cependant, le 4, une ascension thermique; la défervescence se fait brutalement le 5, après administration d'un phage polyvalent pour A, B, C.

CONCLUSIONS

CONCERNANT LES PROPRIÉTÉS A EXIGER D'UN PESTIPHAGE THÉRAPEUTIQUE ET LES CONDITIONS DE SA PRÉPARATION.

La multiplicité des souches de phage, leur spécialisation assez étroite, la rareté des souches polyvalentes d'emblée, expliquent vraisemblablement les conclusions contradictoires des auteurs sur la valeur curative des pestiphages, et peut-être également les résultats discordants obtenus avec d'autres bactériophages.

Ces notions font apparaître sous un jour singulièrement com-

plexe le problème de la phagothérapie, mais donnent à espérer des résultats thérapeutiques plus uniformes, à condition de posséder un produit d'une polyvalence étendue.

Nos essais n'ont porté que sur trois souches microbiennes ; il est certainement possible d'en différencier un assez grand nombre d'autres, d'après leur comportement vis-à-vis des bactériophages. Et inversement, on doit pouvoir isoler un grand nombre de variétés de phages classées d'après leur spécialisation sur les diverses souches de bacilles d'Yersin.

Chaque variété de phage, cultivée en série sur une souche microbienne toujours la même, acquerra vis-à-vis de cette souche une activité exaltée, parfois aux dépens de sa polyvalence initiale.

L'administration d'un mélange de phages, aussi riche que possible en variétés monovalentes, aura le maximum de chances d'atteindre, dans l'organisme, la souche microbienne en cause.

Les observations cliniques, résumées ci-après, montrent les effets, parfois impressionnants, obtenus par l'injection d'un phage approprié.

Les résultats favorables, *acquis avec trois souches seulement*, permettent d'escompter un pourcentage de guérisons plus élevé en étendant la polyvalence du produit.

Mais deux conditions paraissent indispensables au succès :

1° Cultiver le bactériophage sur des souches microbiennes correspondant aux souches en cause chez les malades, d'où l'obligation d'opérer dans chaque pays avec des souches locales ;

2° N'utiliser que des associations polyvalentes. Pour les obtenir, sélectionner, par passages, des phages monovalents très actifs, et réaliser la polyvalence en mélangeant plusieurs souches au moment de la mise en ampoules.

B. — Essais thérapeutiques.

Les observations cliniques des malades traités par un pestiophage attirent les remarques suivantes :

1° ACTION SUR L'ÉTAT GÉNÉRAL. — L'injection sous-cutanée, ou intraganglionnaire, de pestiophage n'a jamais donné lieu à la

moindre réaction locale ou générale, contrairement aux observations de Bruynoghe et Maisin (1) pour qui l'injection sous-cutanée de bactériophage était suivie d'une réaction thermique pouvant atteindre 39° dans les vingt-quatre heures et déterminait localement une tuméfaction rouge et douloureuse persistant pendant plusieurs jours.

A la suite de l'administration intraveineuse de phage, nous avons observé de rares fois une élévation subite et passagère de la température s'accompagnant de phénomènes de choc. Ces troubles n'ont jamais été inquiétants; ils disparaissaient au bout de quelques heures.

L'injection du phage agit rapidement sur l'état général, quelle qu'en soit la voie d'introduction; le délire, les hallucinations font très vite place au calme; le malade accuse une sensation de mieux-être dans la plupart des cas, même lorsque la maladie aura une évolution défavorable. Il est rare d'observer cet état anxieux si fréquent et si pénible chez les malades traités au sérum.

2° ACTION SUR LE BUBON. — L'inoculation de quelques gouttes de pestiphage dans un bubon pesteux est habituellement suivie, dès le lendemain, d'une sédation de la douleur; la périadénite s'amende et disparaît en peu de jours et souvent l'empâtement ganglionnaire se résorbe intégralement.

Lorsque le bubon évolue vers la suppuration, l'incision, ou simplement la ponction à la pointe du bistouri, donne issue à du pus d'aspect louable, et la cicatrisation s'opère en quatre à huit jours.

Les suppurations à allure traînante, habituelles avec les autres méthodes de traitement, sont extrêmement rares chez les pesteux soumis à la phagothérapie et on ne les observe que chez des malades déjà cachectiques ou présentant du sphacèle (obs. 13), avant leur entrée à l'hôpital.

Il arrive parfois que, le bubon ayant rétrocedé, on perçoive, à la palpation de la région qui a repris son aspect normal, un petit kyste fluctuant dont la ponction ramène une très petite quantité de liquide séreux, filant, qui ne montre pas de germes

(1) BRUYNOGHE et MAISIN. *C. R. Soc. Biol.*, janvier 1922, p. 995.

à l'examen direct et ne pousse ni en bouillon, ni sur gélose.

Nous n'avons pas pu déceler dans ce liquide la présence de bactériophage.

Si on injecte du phage dans un bubon dont on vient de constater la richesse en bacille d'Yersin, on peut observer, à l'aide d'une ponction faite deux heures après, que les éléments microbiens sont déjà en voie de lyse manifeste, et au bout de quelques heures on ne retrouve à leur place que des granulations très fines, ne prenant pas le Gram, identiques à celles que présentent les cultures soumises, *in vitro*, à l'action du phage.

Après l'administration de phage, la peste bubonique peut tourner court; la température fait une chute verticale, de 40° ou 41° jusqu'à la normale; le malade est guéri en quelques heures, parfois après une unique injection (obs. 2, 23, 28, 36, 40). Plus souvent, cette défervescence brutale ne s'effectue qu'après la deuxième ou même la troisième injection (obs. 3, 7, 30, 35, 38, 41, 48, 52, 53, 56); assez souvent l'apyrexie s'obtient après une chute en lysis ou en deux paliers (obs. 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 24, 29, 30, 32, 37, 42).

LE PHAGE DANS LE TRAITEMENT DE LA PESTE SEPTICÉMIQUE.

Dans la peste septicémique, le traitement par le pestiphage a donné 5 guérisons sur 6 cas traités (1) [obs. 6, 33, 39, 42, 52]. Le phage était administré par voie endoveineuse: une fois (obs. 6) la défervescence a été obtenue après une seule inoculation; un bubon secondaire, apparu trois jours après, a cédé à une seconde injection de pestiphage.

Deux malades (obs. 42 et 52) ont guéri sans incident après deux injections.

Les malades des observations 33 et 39 ont reçu trois inoculations de bactériophage; après une rémission complète de la température, ils ont présenté pendant trois à quatre jours une fièvre (toxique?) à grandes oscillations.

Les deux décès sont survenus, l'un après cinq jours, l'autre après neuf jours de traitement.

(1) Rappelons à l'actif de la phagothérapie deux autres cas de peste septicémique guéris par cette méthode et signalés par l'un de nous dans une précédente note (1930).

LE PHAGE DANS LE TRAITEMENT DE LA PESTE PULMONAIRE.

Nous n'avons pas eu l'occasion de traiter en 1931 de peste pulmonaire primitive.

Rappelons cependant, pour mémoire, que nous avons pu rapporter, en 1929, une guérison obtenue avec le pestiphage dans un cas de peste pulmonaire primitive.

Par contre, Girard (1), à Madagascar, n'a enregistré, à l'actif de cette méthode, que des améliorations très passagères. Il utilisait le bactériophage en injections intrapulmonaires. Peut-être obtiendrait-on une diffusion plus complète du médicament en l'administrant par la voie endoveineuse. Notre observation de 1929 se rapportait à un malade traité par cette méthode, et l'observation 43, rapportée ci-après, montre que le bactériophage, injecté dans la veine, atteint facilement le poumon : il a suffi, dans ce cas, de deux inoculations intraveineuses d'un phage polyvalent pour faire disparaître les accidents de pneumonie secondaire survenus chez un pesteux bubonique moribond et chez lequel ces complications pulmonaires, avec expectoration riche en bacilles d'Yersin, semblaient être l'annonce d'une fin prochaine.

En présence d'un cas de peste pulmonaire primitive, nous nous proposerions d'inoculer le bactériophage par voie intraveineuse et de le mettre en même temps au contact direct de la muqueuse pulmonaire et des voies respiratoires supérieures à l'aide de pulvérisations, suivant la méthode réalisée à titre préventif avec le vaccin antipesteux, par Ch. Nicolle et ses collaborateurs (2). On utiliserait, pour cette opération, un pulvérisateur à main, à cause de la fragilité du bactériophage, et on aurait soin d'opérer en atmosphère saturée d'humidité, cette saturation pouvant être obtenue soit par ébullition d'eau dans une pièce fermée, soit par un pulvérisateur Lucas Championnière.

(1) GIRARD. *Bull. Soc. Path. Exot.*, novembre 1930, p. 956.

(2) CHARLES NICOLLE, PAUL DURAND, ERNEST CONSEIL. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, janvier 1930, p. 233.

CHARLES NICOLLE, PAUL DURAND, ERNEST CONSEIL. *Archives Inst. Past. de Tunis*, 1930, p. 267.

GEORGES VILLAIN. *Archives Inst. Past. de Tunis*, 1930, p. 277.

Peut-être serait-il indiqué d'utiliser cette même méthode à titre préventif vis-à-vis des contacts de peste pulmonaire primitive.

INCIDENTS AU COURS DU TRAITEMENT DE LA PESTE.

a) BUBON SECONDAIRE. — Nous avons observé, dans un certain nombre de cas, l'apparition d'un *bubon secondaire*. Ce bubon survient parfois alors que la défervescence semblait complète (obs. 6, 15, 17); ou bien, le plus souvent, il se montre au cours d'une défervescence en lysis (obs. 1, 8, 16, 24, 26, 34). Il s'accompagne d'élévation de température et de rechute des symptômes généraux, avec accélération du pouls : dans les observations ci-dessus, cet épisode fut très rapide, et la défervescence définitive était obtenue en vingt-quatre heures, à la suite d'une nouvelle inoculation de bactériophage. Cependant, dans deux cas de peste bubonique mortelle, le décès a été précédé de l'apparition d'une adénite secondaire.

Aucune adénite secondaire n'a évolué vers la suppuration; la résorption en était en général rapide. L'apparition du bubon secondaire fut extrêmement rare chez les malades traités par un bactériophage polyvalent.

b) COMPLICATIONS PULMONAIRES. — Parmi les pesteux buboniques soumis à la phagothérapie, se sont produites quatre atteintes de pneumonie et une congestion pulmonaire double. L'examen des crachats a montré que, seul, le pneumocoque était en cause. Trois de ces malades ont guéri rapidement à la suite d'un traitement au salicylate de soude intraveineux (obs. 3, 11, 21); les deux autres malades ont succombé sans avoir présenté de bacilles d'Yersin dans les crachats. On peut admettre que leur affection pesteuse était guérie. Cette constatation semble présenter quelque intérêt en raison de la fréquence de l'association du pneumocoque et du bacille d'Yersin dans les localisations pulmonaires secondaires de la peste. Nous croyons trouver dans ces cinq observations une preuve de la stérilisation de l'organisme par le pestiphage.

c) ÉPISODE FÉBRILE, D'ORIGINE PROBABLEMENT TOXIQUE. MYOCARDITE. — Un certain nombre de pesteux (obs. 29, 33, 35, 39, 48,

55, 64), après avoir fait une défervescence complète avec amélioration nette de l'état général, semblant annoncer une guérison immédiate, ont présenté subitement une élévation de la température, dépassant parfois 39° le soir. Au cours de cet épisode fébrile, l'accélération du pouls ne suit pas la température; on peut avoir 80 pulsations avec une température de 40°. La discordance sépare nettement cet accident de toutes les autres manifestations de la peste, dans lesquels il y a parallélisme parfait entre le pouls et la température, l'accélération des pulsations précédant même l'ascension du thermomètre (voir obs. 3, 6, 7, 8, 10, 17, 34, 41).

Le plus souvent, après quelques grandes oscillations, tout rentre dans l'ordre en deux ou trois jours et la guérison est acquise sans autre incident, sauf pour certains malades tarés ou âgés chez qui ces complications s'accompagnent parfois de myocardite grave et même mortelle.

Les hémocultures faites à cette période de la maladie restent cependant négatives et les examens *post mortem* d'organes ne montrent pas de bacilles d'Yersin.

Nous croyons pouvoir attribuer cette poussée thermique à la résorption de toxines mises en liberté par la lyse des bacilles. Ce fait est à rapprocher des constatations rapportées plus haut de Morales Villazon (1) chez le rat.

D'ailleurs, ces phénomènes toxiques n'apparaissent pas chez tous les malades; est-ce uniquement affaire de réaction individuelle ou bien de degré dans la toxicité des souches de peste?

LA SÉROTHÉRAPIE EST SANS ACTION ADJUVANTE OU EMPÊCHANTE SUR L'ACTION THÉRAPEUTIQUE DU BACTÉRIOPHAGE. — Nous avons déjà constaté, en 1929, que l'administration de sérum antipesteux n'entravait en rien l'action du bactériophage; cette remarque s'est vérifiée en 1931. Mais le traitement mixte, sérum + pestiphage, ne paraît avoir aucun avantage sur la phagothérapie seule (obs. 14, 16, 17, 19, 21); les inoculations, même répétées, de sérum antipesteux ne mettent pas à l'abri des bubons secondaires (obs. 16, 17, 21) qui se produisent aussi

(1) NE-TOR MORALES VILIAZON, *Loc. cit.*

fréquents avec le traitement mixte qu'avec le seul bactériophage.

Chez un malade très grave (obs. 14), l'administration intraveineuse de 80 cent. cubes de sérum fut suivie d'accidents immédiats impressionnants qui interdisaient formellement une nouvelle injection. Le traitement fut continué par le bactériophage et le malade guérit, non sans avoir présenté une réaction sérique grave.

Chez un autre malade, atteint de bubon cervical (obs. 21), le traitement au sérum seul fut tenté : au bout de trois jours, pendant lesquels la température avait oscillé entre 39°5 et 40°, on vit apparaître des bubons secondaires multiples; l'état général s'aggravant visiblement, le bactériophage est substitué au sérum et le malade guérit malgré une complication pulmonaire à pneumocoques.

LA DÉSENSIBILISATION CONTRE LES ANTIPHAGES DOIT PRÉCÉDER LE TRAITEMENT PAR LE BACTÉRIOPHAGE. — La presque totalité des malades que nous avons eu à traiter à Dakar étaient déjà atteints depuis plusieurs jours (en général trois ou quatre jours) au moment de leur arrivée à l'hôpital.

On pouvait craindre chez eux la formation d'antiphages directs, susceptibles de s'opposer à l'action du pestiphage administré à titre thérapeutique.

Aussi nous a-t-il paru utile d'essayer de réaliser la désensibilisation éventuelle de nos malades, avant d'entreprendre la phagothérapie. Nous avons, dans ce but, utilisé l'auto-hémothérapie qui, ainsi que l'a constaté Rosenthal (1) à propos des antiphages streptococciques et staphylococciques, est capable de désensibiliser l'organisme. Cette méthode fut appliquée à tous nos malades.

Dans le même ordre d'idées, si l'apparition d'un bubon secondaire nécessitait la reprise de la phagothérapie après une interruption de quelques jours, la nouvelle inoculation de bactériophage était préparée par une injection sous-cutanée d'auto-sang.

(1) ROSENTHAL. *C. R. Soc. Biol.*, 100, 1929, p. 1019.

LE pH SANGUIN AU COURS DU TRAITEMENT DE LA PESTE.

Au cours de nos essais de traitement, nous avons pensé qu'il pourrait être intéressant de rechercher les variations du pH sanguin dans la peste.

Nous étions ainsi amenés à déterminer, au préalable, le pH des noirs d'Afrique Occidentale en bonne santé; le chiffre ainsi obtenu pour le sang total, par la méthode colorimétrique de Guillaumin-Cullen, a varié entre 7,50 et 7,57, avec une moyenne de 7,52, chiffre légèrement supérieur au pH normal dans la race blanche (7,40-7,45).

Dans la peste bubonique, avant tout traitement, le pH sanguin des noirs a varié de 7,70 à 7,73, avec une moyenne de 7,71.

Le même pH élevé, 7,72, a été trouvé chez des malades en incubation, la veille de l'apparition de leur bubon.

Les prélèvements, faits de vingt-quatre à quarante-huit heures après l'administration de bactériophage, dès que le malade est amélioré, ont donné un pH moyen de 7,52, avec un minimum de 7,42 et un maximum de 7,64.

Après guérison complète, le pH redevient normal.

Nous donnons ici le résultat de nos constatations, sans en tirer, pour le moment, aucune conclusion.

TECHNIQUE DU TRAITEMENT.

Des faits précédents, découlent les principes qui ont déterminé la technique habituelle du traitement; dans tous les cas, et dès le diagnostic établi par l'examen microscopique, auto-hémothérapie, précédant de quelques heures le traitement spécifique.

Chez les buboniques, le bactériophage est administré, le premier jour, en même temps par voie sous-cutanée et dans le bubon; les deux injections sont renouvelées le lendemain; le troisième jour, le malade reçoit une seule inoculation sous-cutanée. Chaque injection comporte 2 à 3 cent. cubes du produit.

La dose inoculée semble du reste n'avoir qu'une importance

secondaire : l'inoculation, dans le bubon, de 1 cent. cube et même moins paraît aussi active que celle de doses 3 fois plus élevées.

Le bubon secondaire (rare avec le phage polyvalent) est également traité, lorsqu'il survient, par une inoculation dans le ganglion, précédée d'une nouvelle autohémothérapie.

Dans la peste septicémique, le bactériophage a été administré par la voie endoveineuse, à raison d'une inoculation de 3 cent. cubes par vingt-quatre heures, renouvelée au besoin trois jours de suite.

Nous venons d'indiquer comment nous envisagerions un traitement de *peste pulmonaire primitive*.

Il est nécessaire de surveiller attentivement l'état du myocarde ; la digitaline, prescrite à petites doses, a semblé un utile adjuvant du traitement spécifique.

RÉSULTATS THÉRAPEUTIQUES.

STATISTIQUE DES CAS DE PESTE TRAITÉS PAR LA PHAGOTHÉRAPIE EN 1931.

Nos essais de traitement, au cours de 1931, ont porté sur 173 malades. Nous croyons, en effet, pouvoir éliminer de notre statistique 72 pesteux, décédés moins de vingt-quatre heures après leur entrée à l'hôpital, et qui, par suite, n'étaient susceptibles de bénéficier d'aucune thérapeutique.

Ces 72 décès prématurés se sont produits :

9, quelques minutes après l'admission à l'hôpital.

19, moins de six heures après l'entrée.

21, de six à douze heures après l'entrée.

23, de douze à vingt-quatre heures après l'entrée.

Nous comprenons, au contraire, dans les 173 cas traités, 4 malades chez qui le décès, reconnu inévitable dès l'entrée, s'est produit après quarante-huit heures.

Les 173 malades ont fourni 54 décès, soit un pourcentage global de 31 p. 100.

En vue d'une évaluation plus exacte de la méthode, il convient également de tenir compte de 8 malades atteints de peste, mais décédés des suites de maladies intercurrentes ou indépendantes de l'infection pesteuse, savoir :

1 urémique ancien (3 gr. 52 d'urée sanguine) chez lequel une hémoculture, pratiquée la veille de la mort, et l'examen *post mortem* des organes, ne parviennent pas à déceler le bacille d'Yersin.

3 cachectiques, arrivés dans un état de misère physiologique très avancée, et qui étaient à la merci de la plus légère infection. Chez ces malades, décédés les troisième, quatrième, sixième jours, les prélèvements, pratiqués après la mort, se montrèrent négatifs au point de vue bactériologique.

1 femme, cachectique depuis longtemps, avec lésions de tuberculose pulmonaire et osseuse avancées.

1 femme, enceinte de sept mois, qui fait un accouchement prématuré avec hémorragies abondantes et meurt quarante-huit heures après son entrée à l'hôpital.

1 malade, arrivé à l'hôpital dans le coma, et qui, après amélioration de son état général, fait une pneumonie à laquelle il succombe en quatre jours. Les recherches, avant comme après la mort, démontrent l'absence de bacilles d'Yersin, tant dans les crachats que dans les organes; le tissu pulmonaire est farci de pneumocoques.

1 malade, emporté dans des conditions analogues, au cours de sa convalescence, par une congestion pulmonaire double également pneumococcique, sans présence de bacilles pesteux ni dans les crachats, ni dans les tissus.

Si l'on estimait devoir retrancher ces 8 pesteux de la statistique, le taux de la morbidité incombant directement à l'infection pesteuse tomberait à 26,5 p. 100.

Sans prétendre en tirer des conclusions formelles, nous donnerons cependant, à titre d'indications, les chiffres suivants se rapportant aux pesteux admis à l'hôpital indigène de Dakar au cours des trois dernières années :

En 1929, sur 143 malades, 124 ont été traités par le sérum et ont donné 81 décès, soit 65,33 p. 100; 21, choisis parmi les plus graves, ont été soumis à la phagothérapie; ils n'ont fourni que 6 décès.

En 1930, les 124 entrants ont tous été traités par le sérum : la mortalité a été exactement la même que celle de l'année précédente pour le groupe similaire, soit : 65,33 p. 100.

En 1931, les 173 malades traités par le bactériophage

donnent, avec les 72 malades décédés avant traitement, un total de 245 entrants; la mortalité globale a été de 51,4 p. 100 avec 126 décès, soit un gain de 14 p. 100 sur l'année précédente, malgré le chiffre anormalement élevé, en 1931, de décès survenus dans les vingt-quatre premières heures d'hospitalisation.

Si l'on admettait la même proportion de décès prématurés, pour les années 1929 et 1930, la mortalité chez les malades traités au sérum, et ayant survécu plus de deux heures, ressortirait à 51 p. 100, ce qui constituerait, en faveur de la phagothérapie, qui abaisse la mortalité à 31 p. 100, un bénéfice d'au moins 20 p. 100.

Mieux que les chiffres d'une statistique sujette à interprétation, la lecture des observations résumées ci-dessous permettra de juger la valeur intrinsèque du bactériophage appliqué au traitement de la peste.

On y relèvera 5 guérisons de peste septicémique (obs. 6, 33, 39, 42, 52) et 6 guérisons de peste à bubon cervical (obs. 17, 21, 51, 57, 58, 66), malgré l'extrême gravité habituelle de ces deux formes de la maladie.

On y remarquera, dans plus de la moitié des cas, l'atteinte profonde de l'état général, avec signes d'intoxication très prononcée, langue rôtie, ictère, délire.

Enfin 8 malades, absolument moribonds, comateux, à leur arrivée, figurent parmi les guérisons (obs. 14, 17, 25, 27, 34, 45, 55, 66).

Conclusions.

1° Les différentes souches de pestiphage présentent, suivant leur origine, des propriétés nettement personnelles, qui leur confèrent une individualité;

2° Cette individualité se manifeste par la spécialisation de leur activité sur une ou plusieurs souches microbiennes déterminées;

3° La culture d'une race de phage sur une souche microbienne unique développe sa virulence vis-à-vis de cette souche, mais est capable d'entraîner une atténuation ou même une perte complète de son activité sur d'autres races de bacilles précédemment lysées;

4° Un phage, polyvalent à l'origine, est susceptible de perdre sa polyvalence au cours de passages successifs ;

5° La spécialisation d'un phage est d'autant plus étroite qu'il a subi un plus grand nombre de passages sur une même souche microbienne ;

6° La polyvalence d'un phage se maintient intacte, en ampoules, pendant longtemps, certainement plus d'une année ;

7° L'activité thérapeutique du bactériophage est fonction de sa spécificité *in vitro* ;

Le pestiphage n'agira que sous la condition d'être adapté à la souche microbienne en cause chez le malade ;

8° Cette spécificité étroite explique, dans bien des cas, les appréciations discordantes au sujet de la phagothérapie ;

9° L'impossibilité d'identifier, avant traitement, la race microbienne en cause chez chaque malade impose l'obligation d'utiliser un phage aussi polyvalent que possible, ce qui nécessite l'isolement d'un très grand nombre de souches microbiennes et la recherche ou l'*adaptation* (1) de races de phages cultivées sur chacune d'elles, et exaltées par passages ;

10° La polyvalence sera réalisée par le mélange, au moment de la mise en ampoules, des phages monovalents ;

11° L'action curative d'un pestiphage *approprié* est incontestable et rapide, même dans la peste septicémique.

La phagothérapie prévient le développement des accidents pulmonaires à bacilles d'Yersin si fréquents à la période terminale de la peste bubonique ou septicémique et elle est capable de guérir les accidents pulmonaires dus au bacille d'Yersin.

ADDENDUM

Nous résumons ici 66 observations, prélevées parmi les 119 cas de guérison obtenus, en 1931, chez les malades traités par la phagothérapie.

Ces observations sont données suivant l'ordre chronologique.

(1) SERTIC : *C. R. Soc. Biol.*, 100, 1929, p. 612 et 105, 1930, p. 534.

Le phage 1, trivalent, a été utilisé, seul, chez 18 malades; il a donné 13 guérisons.

Les 5 décès se sont produits dans les circonstances suivantes.

a) *Un bubonique axillaire chez lequel, après une défervescence obtenue dès la deuxième jour, étaient apparus un bubon secondaire et une éruption vésiculeuse généralisée (traitement mixte au sérum), mort après dix jours de traitement.*

b) *Un vieillard: amélioration après deux injections de bactériophage; chute de la température, qui passe en 12 heures de 40° à 37°8; puis au troisième jour, sensation de constriction thoracique, hoquet, vomissements, mort le sixième jour de l'hospitalisation.*

c) *Une peste septicémique; décès le sixième jour, après une série de grandes oscillations de 38°7 à 41°2.*

d) *Un bubonique, apporté dans le coma, amélioré dès les premiers jours; mais présente du délire maniaque à partir du quatrième jour de son hospitalisation. Décès après quinze jours de survie. Les prélèvements d'organes ne permettent de déceler aucun bacille après la mort.*

e) *Un bubonique, décédé le troisième jour, sans avoir présenté aucune amélioration dans son état général. A noter, cependant, la cessation de la douleur dès la première inoculation de bactériophage, ce qui, du reste, est le cas habituel.*

Les 13 guérisons se répartissent ainsi:

Quatre montrent une chute verticale de la température (obs. 2, 3, 7, 11). Les malades 3 et 11 ont eu leur convalescence troublée par une affection pulmonaire à pneumocoques.

Six ont eu une défervescence en lysis (obs. 4, 5, 9, 10, 12, 13).

Deux ont présenté un bubon secondaire (obs. 2 et 8).

Un septicémique a fait un bubon tardif le cinquième jour (obs. 6).

OBSERVATION 1. — O. M. B..., dix ans. *Bubon axillaire.*

Entré à l'hôpital le 13 avril.

Malade depuis trois jours; présente des signes d'infection profonde. Température 38°5-40°4. Pouls 150.

Inoculation de phage 1 dans le bubon et par voie sous-cutanée.

Le 14 avril: amélioration sensible de l'état général; le bubon est moins douloureux. Même température; mais le pouls est descendu au-dessous de 120. Même traitement.

Le 15: température 38°5-39°. Pouls 96.

Le 16: la température remonte à 39°5, avec ascension concordante du pouls.

Apparition de 2 bubons cruraux secondaires dont la ponction est positive pour le bacille d'Yersin. Autohémothérapie et injection de phage 1 dans les bubons secondaires.

Le 17: même traitement.

Le 18: température 37°4-38°2.

Le 19: défervescence complète.

Le 20: le bubon axillaire, fluctuant, est incisé: pus aseptique; les bubons cruraux se résorbent.

Le 26: le bubon axillaire est cicatrisé. Guérison.

OBSERVATION 2. — M. N. D... *Bubon inguinal.*

17 avril: malade depuis trois jours.

État général très atteint, excitation, titubation, température 40°6. Autohémothérapie, phage 1 sous-cutané et dans le bubon.

Le 18 : le bubon est moins douloureux, l'état général très amélioré, phage sous-cutané et dans le bubon.

Le 19 : la température est à 37°8; phage sous-cutané.

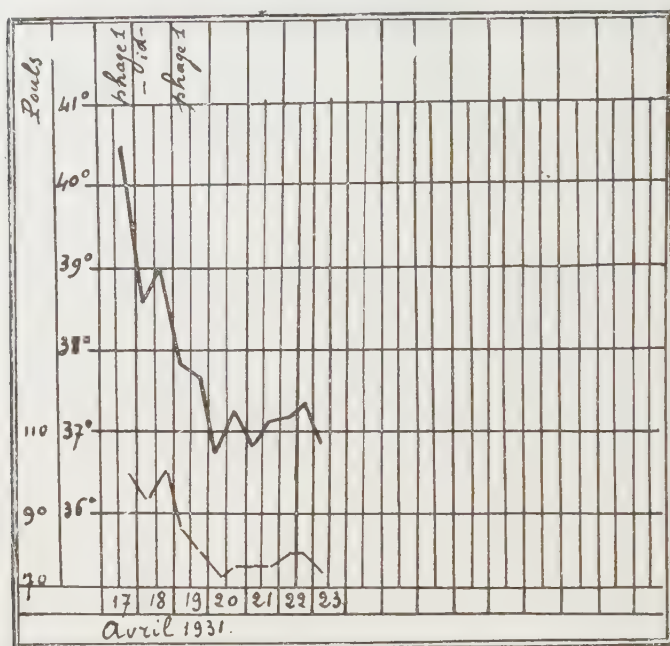


FIG. 1. — Observation 2.

Le bubon rétrocede et disparaît rapidement sans fluctuation. Le malade sort de l'hôpital, entièrement guéri, le 25.

OBSERVATION 3. — M. T... *Bubon inguinal*, début vingt-quatre heures.

20 avril : le malade titube, sueurs profuses, visqueuses; température, 40°1. Autohémothérapie. Phage 1 dans le bubon et par voie sous-cutanée.

21 avril : amélioration de l'état général et local, même traitement.

23 avril : le bubon, non douloureux, a presque disparu : température, 37°3-38; phage 1 sous-cutané.

24 avril : subitement, point de côté, constriction thoracique, râles crépitants. Température, 40°4, crachats rouillés avec pneumocoques sans Yersin. Salicylate de soude intraveineux, 1 gramme matin et soir.

25 avril : état stationnaire, même traitement.

26 avril : défervescence brusque, les symptômes pulmonaires ont tourné court; la convalescence est rapide.

Guérison.

OBSERVATION 4. — D. D... *Bubon inguinal*.

25 avril : sans renseignement sur le début de la maladie.

Etat général très touché, excitation, délire, titubation; température 39°2-

40°2. Pouls 150 160. Autohémothérapie. Phage 1 intrabubon et sous-cutané.

26 avril : la température est à 38°2 ; le pouls à 110.

Phage intrabubon et sous-cutané.

27 avril : l'état général est très amélioré. Bubon moins douloureux avec

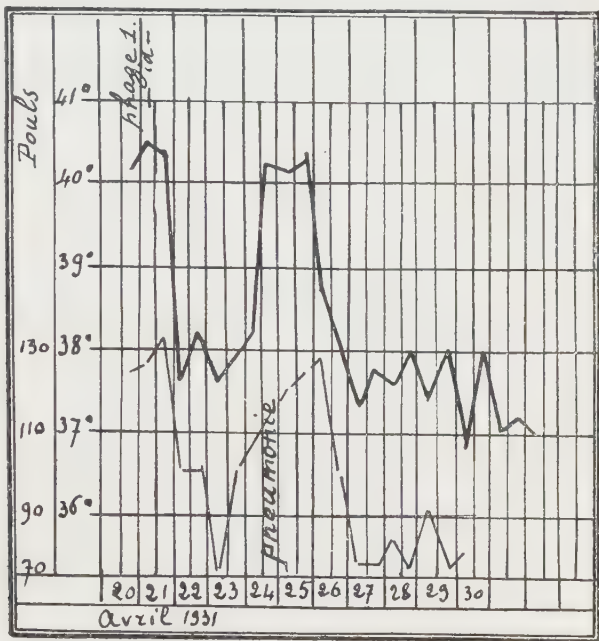


FIG. 2. — Observation 3.

de la périadénite. Phage sous-cutané.

Malade entre en convalescence.

2 mai : incision du bubon fluctuant, la cicatrisation est assurée dès le 6. Guérison.

OBSERVATION 5. — I. D... *Bubon crural*.

6 mai : malade depuis trois jours. Mauvais état, titubation, température, 40°6. Autohémothérapie. Phage 1 sous-cutané et intrabubon.

7 mai : amélioration, le bubon est peu douloureux. Phage sous-cutané et intrabubon.

8 mai : la température se maintient élevée, mais l'état général s'améliore et le pouls est à 96.

Même traitement.

10 mai : apparition d'une phlyctène au-dessous du bubon, pas de germes dans le liquide de la phlyctène.

La température descend en lysis. Le bubon se résorbe. Guérison rapide.

OBSERVATION 6. — O. N. D..., quinze ans. *Peste septicémique*.

15 mai : début trois jours par frissons et fièvre, hémoculture.

16 mai : l'hémoculture est positive pour le bacille d'Yersin. Inoculation intra-veineuse de phage 1 ; l'injection est suivie d'un léger choc, la température

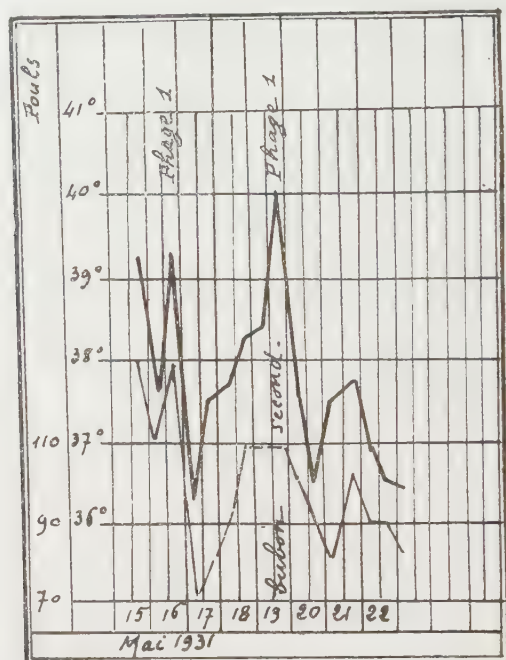


FIG. 3. — Observation 6.

monte à 40°2 pour redescendre verticalement à 36°2 pendant la nuit. Le pouls suit exactement la température, tombant de 130 à 70.

17 mai : amélioration, sensation de bien-être.

19 mai : ascension thermique avec frissons accompagnant l'apparition d'un bubon crural. Autohémothérapie, phage 1 intrabubon et sous-cutané.

20 mai : la température est normale, l'état général excellent.

Le ganglion se résorbe rapidement.

Le malade sort guéri le 23.

OBSERVATION 7. — B. D... Adénite crurale.

16 mai : début trois jours, mauvais état, infecté. Température 39°5. Autohémothérapie. Phage 1 et sous-cutané.

17 mai : même traitement sauf l'autohémothérapie.

18 mai : phage sous-cutané.

19 mai : la température tombe brutalement à la normale en même temps que l'état général s'améliore. Le bubon se résorbe. Le malade entre en convalescence.

Guérison.

OBSERVATION 8. — M. B. M. B..., douze ans. *Bubon crural*.

Contact de sa mère et de sa sœur atteintes de peste pulmonaire et qui meurent le 17 et le 18 mai en ville.

17 mai : malade depuis trois jours, très mauvais état général, température 41°6, pouls à 160. Dyspnée intense, congestion des 2 bases.

Autohémothérapie. Phage 1 intrabubon et intraveineux.

18 mai : même traitement.

19 mai : état très amélioré. La dyspnée a disparu. Température 39°5, pouls 90. Phage intrabubon. Dans la soirée la température atteint 40°, le pouls 120, apparition d'un *bubon secondaire* qui reçoit une injection de phage.

23 mai : Après une défervescence en lysis, la convalescence se précise, guérison rapide, sans suppuration des bubons.

OBSERVATION 9. — V. C... *Adénite crurale*.

18 mai : malade depuis trois jours. Titubation, dyspnée.

Autohémothérapie. Phage 1 intrabubon et sous-cutané.

19 mai : amélioration, le bubon est moins douloureux. Phage intrabubon et sous-cutané.

20 mai : L'amélioration se précise. La chute en lysis de la température est amorcée.

Phage sous-cutané.

23 mai : Incision du bubon fluctuant.

La cicatrisation est assurée en quatre jours. Guérison.

OBSERVATION 10. — S. D... *Bubon axillaire*.

19 mai : température 40°6. Autohémothérapie, phage 1 intrabubon et sous-cutané.

20 mai : L'état général est meilleur. Le bubon est moins douloureux.

Phage sous-cutané et intrabubon.

21 mai : La défervescence, amorcée la veille, s'accroît. Phage 1 sous-cutané.

24 mai : Le bubon, fluctuant, est incisé. Cicatrisation en quatre jours.

Guérison sans incident, après défervescence en lysis.

OBSERVATION 11. — J. M. G... *Bubon axillaire*.

20 mai : malade depuis deux jours, très mauvais état général, intoxiqué, dyspnée.

Autohémothérapie. Phage 1 intrabubon et sous-cutané.

21 mai : amélioration de l'état général et local. Chute de la température d'un degré.

Phage intrabubon et sous-cutané.

23 mai : la température monte subitement de 37°4 à 39°8; sensation de constriction thoracique.

24 mai : signes de congestion pulmonaire double. Pas de Yersin dans les crachats hémoptiques, très nombreux pneumocoques. Administration de 2 grammes de salicylate de soude par la voie endoveineuse.

25 mai : température 38°2. Amélioration nette. Même traitement.

26 mai : Défervescence totale. Le malade guérit sans autres incidents.

A noter que l'ascension de la température, le 24 et le 25, due aux complications pulmonaires, n'a pas entraîné une accélération correspondante du pouls.

OBSERVATION 12. — M. N. D... *Bubon inguinal et bubon crural.*

21 mai : début trois jours. Température 39°7.

Autohémothérapie. Phage 1 dans les 2 bubons et par voie sous-cutanée.

22 mai : bubons moins douloureux. La température oscille entre 38°2 et 38°6. Phage dans les bubons et sous-cutané.

23 mai : température 37°4-38°4.

Phage sous-cutané.

27 mai : incision d'un des bubons qui est fluctuant. Cette intervention ramène la température et le pouls à la normale, dès le lendemain.

Guérison.

OBSERVATION 13. — S. N. D... *Bubonique.*

28 mai : malade depuis cinq jours, présente 2 bubons, dont 1 sphacélé. Etat général très atteint. Sensation de constriction thoracique.

Autohémothérapie. Phage 1 dans les 2 bubons et sous-cutané.

29 mai : état stationnaire. Phage dans les bubons et sous-cutané.

30 mai : amélioration nette. Chute de la température d'un degré : le pouls tombe à 90. Phage sous-cutané.

Les jours suivants la température tombe en lysis, pour atteindre la normale le 5 juin.

Le malade ne sort de l'hôpital que le 1^{er} août après cicatrisation de son bubon sphacélé.

Le phage 1 étant presque épuisé, nous avons réservé les quelques ampoules restantes, en vue de recherches de laboratoire et nous nous sommes adressés au phage 2, tout récemment préparé avec le même filtrat M. T. ; ce phage 2 fut utilisé pour la première fois le 6 juin chez un bubonique très gravement infecté (obs. 14). Bien que le malade ait guéri, l'action curative de ce phage se montrait hésitante.

OBSERVATION 14. — S. B... *Bubon crural.*

6 juin : malade délirant, ictère, langue rôtie, incontinence des matières. Température 40°2. Pouls 120. Reçoit à l'entrée 80 cent. cubes de sérum antipesteux par voie endoveineuse. A la suite de cette inoculation, refroidissement des extrémités, sueurs froides, pouls filant à 150, collapsus. La sérothérapie est interrompue, et le malade reçoit le 7 juin, après autohémothérapie, une inoculation de phage 2, dans le bubon et par voie sous-cutanée.

8 juin : l'état général s'améliore. Température 37° ; phagothérapie intrabubon et sous-cutanée.

9 juin : ascension brutale de la température à 39°8, sans aggravation correspondante de l'état général. Même traitement.

12 juin : élévation de température accompagnant une réaction sérique.

16 juin : incision du bubon.

La convalescence est trainante, cependant le malade sort guéri le 27 juin.

L'expérience, in vitro, de phage 2 devait nous montrer par la suite que, contre toute attente, il différait sensiblement du phage 1, bien que tous les deux aient eu la même origine; alors que le phage 1 était actif sur les 3 souches de bacilles en expérimentation, le phage 2 n'était actif que sur une seule de ces 3 souches, et encore sa virulence était-elle peu marquée.

Dans les observations suivantes (obs. 15, 16, 17, 18, 19), le traitement a été commencé avec le phage 2, soit seul (obs. 15, 18), soit associé au sérum (obs. 16, 17, 19); cette médication n'a pas amené la défervescence complète (obs. 16, 18) ou bien a été suivie, après défervescence, d'une rechute grave, avec, dans trois cas, apparition d'un bubon secondaire. Chez les 5 malades, l'administration ultérieure d'un bactériophage 1, réactivé par passage sur la souche microbienne B, a amené une chute brutale et définitive de la température.

OBSERVATION 15. — L. M... *Bubon crural*.

6 juin : malade depuis deux jours. Aspect très infecté, dyspnée intense, température 40°3, pouls 120.

Autohémothérapie ; phage 2 dans le bubon et par voie sous-cutanée.

8 juin : température 37°7-39°2. Pouls 90-96.

Amélioration de l'état général. Le bubon n'est plus douloureux.

Phage 2 intrabubon et sous-cutané.

7 juin : température 38°-38°4, phage 2 sous-cutané.

11 juin : après une défervescence presque complète, la température remonte au delà de 39°, en même temps que le pouls s'accélère. Apparition d'un *bubon secondaire* dans la région inguinale. Injection dans le bubon secondaire de phage 1 réactivé sur la souche microbienne B.

13 juin : chute brutale et définitive de la température à 37°4; le pouls redevient normal.

16 juin : le bubon secondaire est résorbé. Le bubon initial, fluctuant, est incisé; il sera entièrement cicatrisé en quelques jours.

Guérison.

OBSERVATION 16. — A. T... *Bubon crural*.

7 juin : malade depuis deux jours; très infecté à l'entrée, langue rôtie.

Sérum antipesteux 80 cent. cubes intraveineux.

8 juin : état stationnaire.

Sérum 80 cent. cubes. Autohémothérapie.

Phage 2 intrabubon et sous-cutané.

9 juin : même état, même traitement.

10 juin : la température baisse d'un degré, l'état général s'améliore, malgré des signes de myocardite.

Sérum 60 cent. cubes, phage 2 sous-cutané.

11 juin : le bubon n'est plus douloureux. Sérum 60 cent. cubes.

12 à 14 juin : la température oscille autour de 38°.

15 juin : ascension du thermomètre à 40°, précédée d'accélération du pouls.

16 juin : apparition d'un *bubon secondaire* sous-maxillaire, avec une température de 40°3. L'état général est inquiétant, pouls à 120.

Autohémothérapie, puis administration dans le bubon secondaire de 2 cent. cubes de phage 1, réactivé sur souche microbienne B.

18 juin : chute brutale de la température à 37°.

Défervescence définitive.

Guérison sans autre incident.

OBSERVATION 17. — C. K... *Bubon cervical et bubon crural*.

8 juin : malade très abattu, subcomateux. Température 39°6.

Sérum antipesteux 80 cent. cubes intraveineux. Le soir, température 40°8.

9 juin : Aggravation avec pouls à 130. Sérum 80 cent. cubes.

Autohémothérapie, phage 2, dans les bubons.

10 juin : légère amélioration, la défervescence s'amorce; le pouls descend au-dessous de 100.

Sérum 60 cent. cubes; phage 2 dans les bubons.

11 juin : même traitement.

12 juin : défervescence complète, pouls à 70.

Amélioration considérable de l'état général.

13 juin : ascension brutale de la température à 40°5 et du pouls à 120.

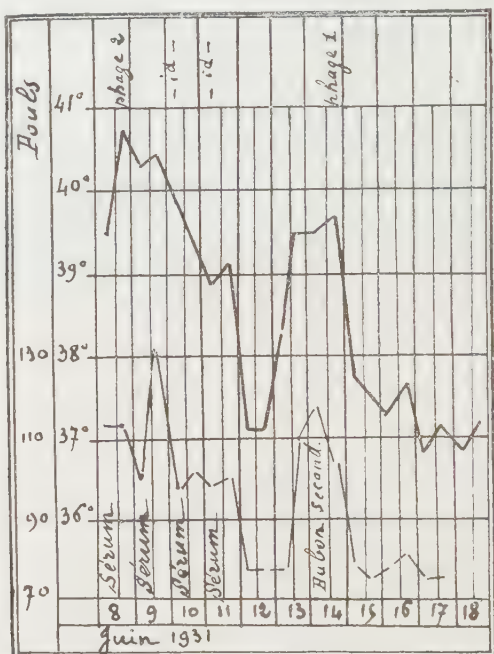


FIG. 4. — Observation 17.

suivie, le 14, de l'apparition d'un *bubon secondaire*, crural.

14 juin : inoculation dans les bubons d'un phage 1, réactivé sur souche bactérienne B.

Dès le lendemain, chute verticale de la température qui passe en quelques heures de 40°7 à 37°7.

Le bubon cervical est résorbé, ainsi que le bubon secondaire.

Le bubon crural primitif, qui est fluctuant, est incisé le 22; et le malade sort le 1^{er} juillet entièrement guéri.

OBSERVATION 18. — R. C... *Bubon crural*.

10 juin : malade depuis trois jours. Très mauvais état agitation, délire. Température 40°2.

Autohémothérapie. Phage 2, intrabubon et sous-cutané.

11 juin : phage 2 intrabubon et sous-cutané.

12 juin : le malade, plus calme, parle. Le bubon n'est plus douloureux. La température est toujours à 40°. Phage 2 sous-cutané.

15 juin : la température reste toujours élevée ; l'état général peu amélioré. Inoculation sous-cutanée et dans le bubon de phage 1, réactivé sur souche microbienne B.

Dès le lendemain, défervescence amorcée, qui se précise le 17. Température 37°2-38°5.

La température normale est atteinte le 21, par une chute en lysis.

Guérison.

OBSERVATION 19. — G. B... *Bubon crural*.

16 juin : malade infecté, titube, ictère. Température 40°9.

Est soumis à traitement mixte : sérum 80 cent. cubes et phage 2, intrabubon et sous-cutané.

17 juin : le malade semble très amélioré. Même traitement.

18 juin : Rechute avec ascension brutale de la température et du pouls. Une inoculation intraveineuse de phage 1, réactivé sur souche B, amène la défervescence verticale, définitive. Guérison.

Les observations 20 et 21 se rapportent à 2 malades, chez lesquels le même phage 1, réactivé sur souche B, qui avait déterminé la guérison dans les observations 16 à 19, a dû être secondé par l'administration de phage 2. A noter que le malade de l'observation 21, atteint d'un bubon cervical, a guéri malgré l'apparition d'une pneumonie que les examens bactériologiques ont permis d'attribuer au pneumocoque.

OBSERVATION 20. — S. C... *Bubon inguinal*.

13 juin : Très mauvais état général. Température 40°6.

Autohémothérapie, puis inoculation de phage 1 réactivé sur B ; amélioration sensible de l'état général ; le bubon n'est plus douloureux dès le 15.

Mais, la température fait encore, jusqu'au 18, de larges oscillations aux environs de 40°.

18 juin : une inoculation sous-cutanée de phage 2 est suivie d'une défervescence rapide, définitive.

Le malade guérit après résorption de son bubon.

OBSERVATION 21. — A. D... *Bubon cervical*.

16 juin : début de la maladie : trois jours.

Malade très fatigué.

On institue un traitement au sérum seul, les 16, 17, 18 juin. La température reste à 40° ; l'état général s'aggrave visiblement.

19 juin : apparition d'adénites multiples. On abandonne le sérum et on administre, après autohémothérapie, du phage 1 réactivé sur souche B, dans chaque bubon et par voie endoveineuse.

Le lendemain, chute d'un degré. Même traitement.

21 juin : phage 2 sous-cutané. La température descend à 38°2, puis, le 23 juin, à 37°3. L'état général paraît bon ; la guérison semble assurée, lorsque, le 25 au soir, apparaissent des symptômes pulmonaires (pneumonie), l'examen des crachats montre la présence de très nombreux pneumocoques, sans bacilles d'Yersin. Traitement au salicylate de soude intraveineux. La pneumonie tourne court au quatrième jour ; la température normale est définitivement atteinte le 2 juillet.

Le bubon cervical a suppuré. Les autres se sont résorbés. Guérison.

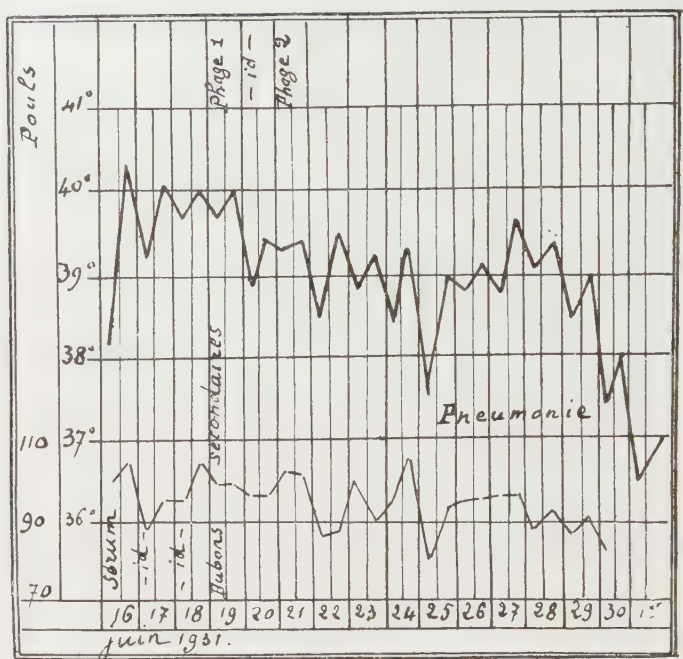


FIG. 5. — Observation 21.

Par contre, deux injections de phage I, réactivé sur souche B, ont obtenu, à elles seules, la guérison d'un cas très grave (obs. 22).

OBSERVATION 22. — O. B... Adénite crurale.

15 juin : malade depuis deux jours. Prostration, subictère, délire, température : 41°1.

Autohémothérapie.

Phage 1, réactivé sur B, intrabubon et sous-cutané.

16 juin : la température oscille entre 39° et 40°. Le délire a disparu.

Phage 1, réactivé, intrabubon et sous-cutané.

18 juin : amélioration nette de l'état général; la défervescence en lysis s'amorce. Le malade sortira guéri, le 5 juillet, son bubon, incisé le 22 juin, entièrement cicatrisé.

Les observations suivantes, prélevées sur un lot d'une centaine, se rapportent à des malades traités par les phages 3 et 4 et par des associations polyvalentes, soit de ces phages eux-mêmes, soit de leurs dérivés, obtenus par culture sur l'une de nos 3 souches microbiennes.

Cette série comprend 5 pestes septicémiques avec 4 guérisons (obs. 33, 39, 42, 52).

La chute verticale de la température, marquant une guérison définitive, a été obtenue après une seule inoculation de phage (obs. 23, 28, 36, 40, 56), ou bien

après deux injections (peste bubonique, obs. 30, 35, 38, 48, 53, 57), et peste septicémique (obs. 42, 52).

Les observations 25, 27, 32, 53 présentent des malades rapidement guéris grâce à l'intervention d'une souche de phage appropriée, alors qu'ils n'avaient pas été influencés par d'autres souches de ce produit, d'activité certaine chez d'autres malades.

OBSERVATION 23. — A. C... *Bubon crural*.

1^{er} juillet : température 40°5.

Autohémothérapie, puis inoculation de phage 3, intrabubon et sous-cutané. Dès cette première injection, chute de la température à 38°7.

2 juillet : phage 3 sous-cutané. Guérison assurée en quarante-huit heures, le bubon se résorbe.

OBSERVATION 24. — M. C... *Bubon crural*.

6 juillet : malade depuis deux jours.

Etat infectieux accentué, subictère. Température 40°2.

Autohémothérapie, phage 3 intrabubon et sous-cutané.

7 juillet : amélioration dans l'état général. Température 39°2. Le bubon n'est plus douloureux.

Phage 3, intrabubon et sous-cutané.

8 juillet : Même traitement.

9 juillet : Bien que la température continue sa défervescence lente, en lysis, le pouls s'accélère, sa courbe marquant un clocher aigu; en même temps apparaît un *bubon secondaire* qui disparaîtra spontanément.

19 juillet : incision de l'adénite primitive, le malade sort guéri, le 31.

OBSERVATION 25. — P. C... *Bubon inguinal*.

8 juillet : malade depuis quatre jours. Moribond à l'entrée. Température 40°5.

Autohémothérapie. Phage 3 sous-cutané et intrabubon.

9 juillet : même traitement; pas d'amélioration.

10 juillet : la température baisse de 2° : 38°5. Phage 3 intrabubon.

Malgré une descente progressive du pouls qui passe de 140 à 80, le malade reste délirant jusqu'au 13 juillet.

14 juillet : la température, qui avait oscillé la veille autour de 38°, remonte au delà de 39°. Il est fait, le 16, une inoculation intraveineuse de phage 1, réactivé sur souche B. La défervescence est complète en deux jours, et est définitive.

La ponction du bubon, faite le 16, donne issue à une très petite quantité de pus. La cicatrisation se fait en quelques jours.

OBSERVATION 26. — D. F... *Bubon crural*.

19 juillet : malade depuis deux jours. Température 39°3.

Autohémothérapie. Phage 3, dans le bubon et sous-cutané.

20 juillet : la température monte à 40°3.

Inoculation de phage 3, comme la veille.

21 juillet : la défervescence s'amorce, le bubon n'est plus douloureux.

Phage 3 sous-cutané.

23 juillet : après une chute rapide de la température, qui passe de 39° à 37°2 en vingt-quatre heures, la guérison est obtenue.

26 juillet : ponction du bubon. Très peu de pus.

30 juillet : jexeté.

OBSERVATION 27. — G. G..., sept ans. *Bubon inguinal*.

11 juillet : malade depuis trois jours avec agitation et délire. A son entrée, coma.

Autohémothérapie, phage 3, intrabubon et sous-cutané.

12 juillet : même traitement, par le phage 3, état stationnaire.

13 juillet : amélioration de l'état général, température 37°7-38°8.

14 juillet : le bubon, en voie de guérison, n'est plus douloureux, mais la température remonte à 40°.

Injection sous-cutanée de phage 1 réactivé sur souche B.

15 juillet : rémission nette, température 37°8-38°6.

16 juillet : ascension thermique accompagnant l'apparition d'un bubon secondaire. Inoculation intrabubon et sous-cutanée de phage 1. Défervescence définitive obtenue en trois jours.

26 juillet : incision du bubon primitif fluctuant. Le malade sort guéri le 31.

OBSERVATION 28. — B. G..., *Bubon crural*.

Chute verticale en douze heures de la température de 40° à 36°3 et du pouls

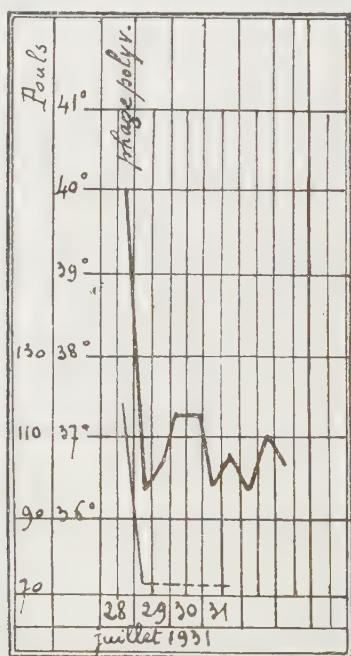


FIG. 6. — Observation 28.

de 120 à 70, à la suite d'une injection sous-cutanée et intrabubon d'un phage trivalent obtenu par mélange de : phage 2 actif sur souche C + phage 3 actif sur souche A et B + phage M. T. entraîné sur souche C.

Guérison sans incident.

OBSERVATION 29. — F. S..., *Bubon inguinal*.

Malade très infectée, état général mauvais, température 39°5.

29 juillet : Autohémothérapie, phage 4 sous-cutané et intrabubon.

30 juillet : aggravation nette, température 40°8.

Inoculation intraveineuse de phage M. T. actif pour les deux souches B et C.

31 juillet : la défervescence est amorcée; l'état général amélioré.

Injection intraveineuse de phage trivalent.

1^{er} août : chute de la température à 37°7; le bubon n'est plus douloureux et se résorbe.

A noter, le lendemain, une nouvelle ascension thermique, coïncidant avec un pouls à 80, et due à une résorption toxique.

La malade sort guérie le 10.

OBSERVATION 30. — M. S..., *Bubon crural*.

Défervescence en lysis, sans incident, à la suite de deux injections intrabubon et sous-cutané, d'un phage trivalent.

Guérison sans incident.

Résorption du bubon.

OBSERVATION 31. — R. M... *Bubon crural*.

La défervescence définitive est obtenue, par une chute verticale de 39°3 à 36°5, après 3 inoculations intraveineuses de phage polyvalent.

Guérison sans incident.

OBSERVATION 32. — M. M. B... *Bubon axillaire*.

1^{er} août : malade depuis la veille, température 40°2.

Autohémothérapie; phage 3, intrabubon et sous-cutané.

2 août : température 40°8, le matin; état grave.

Phage trivalent intraveineux. Le soir, la température est à 39°1, le pouls moins rapide.

3 août : même traitement.

4 août : défervescence nettement amorcée.

Guérison obtenue, sans suppuration, après chute en lysis de la température.

OBSERVATION 33. — A. W... *Peste septicémique*.

3 août : malade depuis quatre jours.

La défervescence est obtenue le 6 août après trois injections intraveineuses de phage trivalent.

Le 7 et le 8 : ascension thermique aux environs de 39°; pouls 80 (résorption toxique).

Guérison complète, définitive, le 10 août.

OBSERVATION 34. — S. N..., trois ans. *Bubon crural*.

4 août : malade depuis vingt-quatre heures, fièvre, convulsions.

Phage trivalent sous-cutané et intrabubon (mélange de phage 4, actif sur B + 3, actif sur A et B, +1 hyperactif sur C).

5 août : état aggravé, l'enfant est considérée comme perdue. Même traitement.

6 août : amélioration considérable, température 37°7 et 38°6.

7 août : rechute brutale avec aggravation correspondante des symptômes.

Le pouls s'accélère en même temps que la température s'élève. Apparition d'un bubon secondaire.

Inoculation même mélange polyvalent.

Le lendemain défervescence complète.

Guérison sans autre incident.

OBSERVATION 35. — M. T... *Bubon crural*.

4 août : le malade entre à l'hôpital vingt-quatre heures après l'apparition de son bubon.

La guérison est obtenue dès la première inoculation de phage trivalent

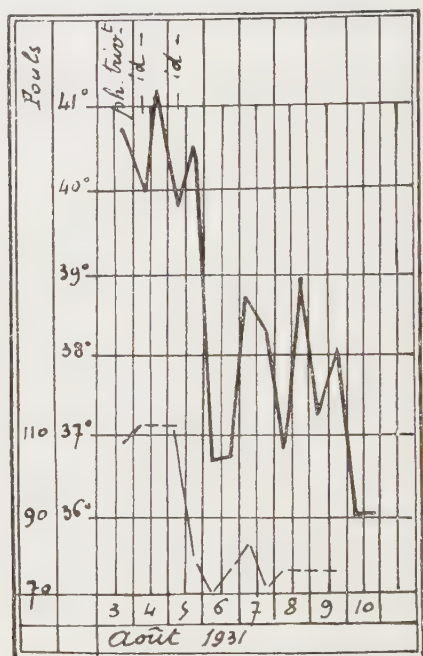


FIG. 7. — Observation 33.

(sous-cutané et intrabubon), précédée d'autohémothérapie.

Nouvelle injection le lendemain.

A noter le 8 et le 9 une petite élévation de température, d'origine toxique, alors que la courbe du pouls ne marque pas d'ascension correspondante.

Guérison.

OBSERVATION 36. — A. H... *Bubon épitrochléen*.

7 août : malade depuis quatre jours, température, 39°7.

La défervescence définitive est obtenue par une chute verticale à 36°9, à la suite d'une seule injection intraveineuse de phage trivalent.

Guérison sans incident et sans suppuration.

OBSERVATION 37. — M. D..., dix ans. *Bubon inguinal*.

7 août : traité par autohémothérapie et inoculations intrabubon et intraveineuse de phage trivalent (phage 3 + phage 4 + phage 1 hyperactif pour souche C).

8 août : défervescence amorcée. Etat général et local amélioré. Phage polyvalent intraveineux.

9 août : même traitement.

Chute de la température en lysis; la guérison est obtenue sans incident.

OBSERVATION 38. — F. N. D... *Bubon crural*.

Malade depuis trois jours, très fatigué à l'entrée, dyspnéique, très infecté.

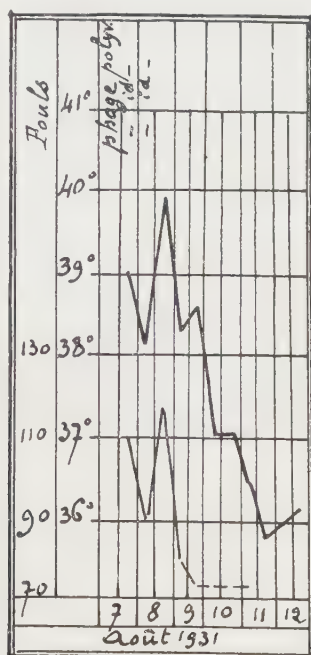


FIG. 8. — Observation 38.

Guérison obtenue, sans incident, par trois inoculations intrabubon et intraveineuse de phage trivalent.

OBSERVATION 39. — A. N... *Peste septicémique*.

7 août : début, trois jours. Température, 39°. Malade très infecté.

Autohémothérapie, phage trivalent intraveineux (phage 3, phage 4, phage 1 hyperactif sur souche C).

8 août : défervescence. Amélioration nette. On a l'impression que le malade est guéri.

Phage polyvalent intraveineux.

9 août : même traitement.

A noter des oscillations thermiques les 9, 10, 11 sans accélération corres-

pondante du pouls et qui n'ont pas touché l'état général (résorption toxique).

Guérison sans autre incident.

OBSERVATION 40. — M. D... *Bubon inguinal*.

7 août : température : 40°. Malade depuis cinq jours.

Autohémothérapie, phage trivalent intraveineux.

8 août : grande amélioration. Température : 37°8-37°9.

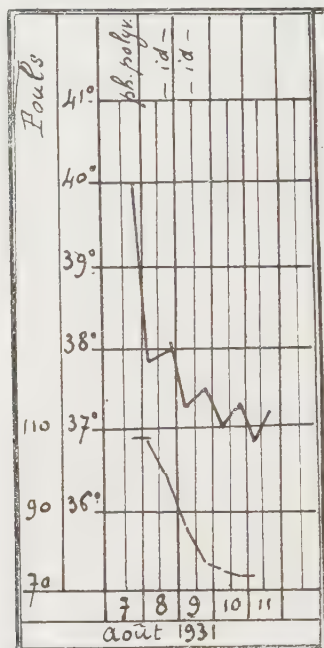


FIG. 9. — Observation 40.

Phage trivalent intraveineux.

9 août : température normale. Le malade est guéri, le bubon se résorbe sans suppuration.

OBSERVATION 41. — O. N..., quatre ans, *Bubon crural*.

Malade depuis quatre jours. Température : 40°.

La défervescence à 37° est obtenue dès la première injection de phage trivalent, sous-cutané et intrabubon.

Guérison définitive, sans suppuration.

OBSERVATION 42. — F. B. D... *Peste septicémique*.

Très mauvais état général. Constriction thoracique.

Malgré l'inoculation d'un phage trivalent, administré le 10, la température s'élève et l'état général s'aggrave le 11.

On inocule un phage MT, bivalent pour souches B et C.
Amélioration très rapide de l'état général.

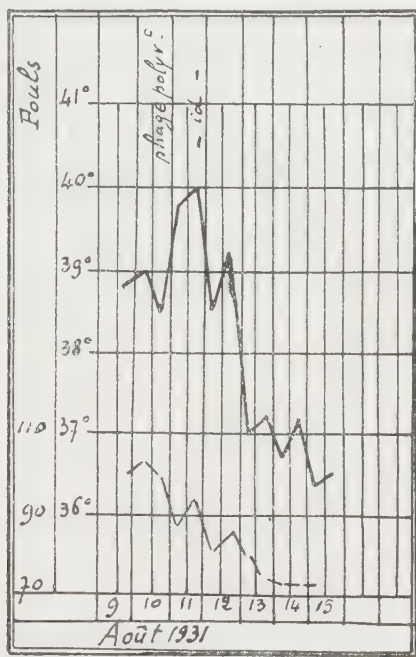


FIG. 10. — Observation 42.

La défervescence est obtenue en moins de vingt-quatre heures.
Guérison sans incident.

OBSERVATION 43. — M. C... Broncho-pneumonie pesteuse secondaire.

26 juillet : malade évacué du lazaret, où il était en observation. Présente à l'entrée à l'hôpital : hyperthermie et état infectieux prononcé.

Pas de bubon. Hémoculture négative.

On est tenté de mettre l'état général uniquement sur le compte d'un empiètement au niveau du bras, avec menace de phlegmon, attribué à une piqure septique.

L'état du malade s'aggrave malgré un traitement au propidon.

31 juillet : le malade est moribond.

1^{er} août : signes de congestion pulmonaire : émission de crachats teintés de sang, contenant de très nombreux bacilles d'Yersin.

Deux injections intraveineuses de phage polyvalent sont faites le 1^{er} et le 2 août.

Amélioration immédiate de l'état général et local.

Guérison rapide, sans incident, après une courte ascension thermique à 39°6, le 3 août.

L'accident, à forme phlegmoneuse, du bras, disparaît en même temps que

les troubles pulmonaires et tout porte à croire qu'il était, lui aussi, d'origine pesteuse et peut-être sous la dépendance d'un bubon profond inaperçu. (Comparer l'observation 44 dans laquelle un phlegmon du bras est consécuteur à un bubon sus-épitrochléen, riche en bacilles de Yersin.)

OBSERVATION 44. — A. D... *Bubon sus-épitrochléen.*

11 août : bubon sus-épitrochléen avec gros œdème du bras.

Autohémothérapie.

Inoculation de phage trivalent intraveineux et intrabubon, les 11 et 12 août.

13 août : défervescence totale qui se maintient avec quelques oscillations et est définitivement acquise le 18 après incision du phlegmon du bras.

OBSERVATION 45. — M. R... *Bubon crural.*

12 août : très mauvais état général à l'entrée. Température : 40°6.

Autohémothérapie, phage bivalent pour souches A et B, intrabubon et intraveineux.

13 août : les injections sont renouvelées avec un phage trivalent.

15 août : la température atteint encore 39°7. Le pouls, qui était descendu à 90 la veille, remonte à 110.

Injection endoveineuse de phage trivalent.

16 août : amélioration rapide de l'état général.

Défervescence en lysis.

Guérison sans autres incidents que deux élévations passagères de la température à 38°4 et 39°, sans ascension parallèle du pouls.

Le bubon, incisé le 21, donne une suppuration peu abondante.

Guérison.

OBSERVATION 46. — M. S... *Bubon crural.*

Défervescence en lysis après deux inoculations de phage polyvalent.

A noter que cette femme était enceinte de quatre mois et que sa grossesse n'a pas été troublée par son infection pesteuse.

Elle a eu seulement une convalescence un peu traînante ; le pouls n'est revenu à la normale que lentement ; le bubon s'est résorbé, sans suppuration, mais avec une lenteur inhabituelle.

OBSERVATION 47. — F. G..., sept ans. *Bubon crural.*

A reçu quelques jours avant son admission à l'hôpital une injection de sérum antipesteux à titre préventif.

16 août : bubon avec présence de bacilles d'Yersin. Température : 40°.

Autohémothérapie, inoculation de phage bivalent (pour souches A et B) dans le bubon.

17 août : défervescence nette à 38°6.

Phage bivalent intraveineux.

Guérison rapide, après un léger accident sérique.

Le bubon se résorbe sans suppuration.

OBSERVATION 48. — C. D. G... *Bubon crural.*

Guérison définitive après deux injections de phage bivalent (pour souches A et B).

La température tombe en vingt-quatre heures de 39°7 à 37°.

OBSERVATION 49. — Sept ans. *Bubon axillaire.*

A reçu, quelques jours avant son admission à l'hôpital, une injection de sérum antipesteux.

Défervescence, de 40°5 à 38° dès la première inoculation de phage (intraveineux et intrabubon) bivalent pour A et B.

L'apyrexie complète est obtenue par une courbe en lysis, troublée par un accident sérique sans gravité.

Guérison définitive en quelques jours.

Le bubon se résorbe.

OBSERVATION 50. — D. H..., douze ans. *Bubon axillaire*.

Enfant *cachectique* et très infecté à l'arrivée à l'hôpital.

Traité par un mélange bivalent intrabubon et sous-cutané le 19 et le 20.

Inoculation intraveineuse le 21.

Grandes oscillations thermiques, le pouls ne suivant pas la température.

La défervescence définitive est obtenue le 25.

Guérison sans incident autre qu'une suppuration trainante du bubon qui maintient le malade à l'hôpital jusqu'au 10 septembre.

OBSERVATION 51. — I. D..., dix ans. *Adénite cervicale*.

Après autohémothérapie, administration d'un phage monovalent, pour souche B, intrabubon et intraveineux, les 21 et 22 août.

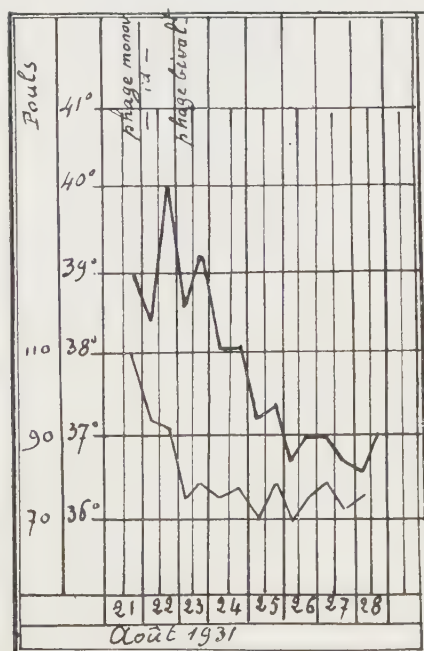


FIG. 11. — Observation 51.

La défervescence est déclanchée, le 23, par inoculation intraveineuse de phage bivalent pour A et B.

Guérison obtenue sans incident, le bubon est résorbé.

OBSERVATION 52. — M. N. B... *Peste septicémique.*

Entré à l'hôpital le 24 août.

Autohémothérapie.

Phage monovalent intraveineux le 24 août.

Température stationnaire le 25.

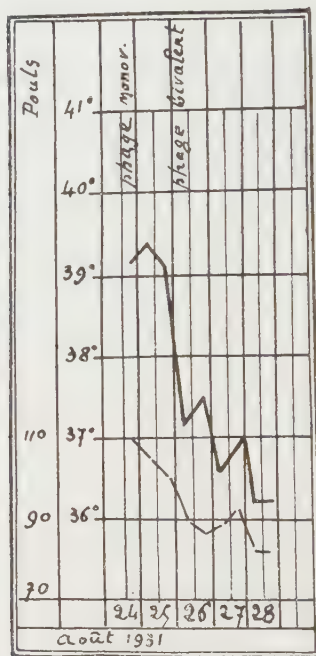


FIG. 12. — Observation 52.

Administration d'un phage bivalent, suivie en quelques heures d'une défervescence définitive.

Guérison.

(Hémoculture faite le 24, a été positive pour Yersin.)

OBSERVATION 53. — M. N. D..., cinq ans. *Bubon crural.*

Reçoit à l'entrée, le 23 août, phage monovalent pour B, en inoculation intraveineuse et intrabubon.

Le 24, état stationnaire.

Inoculation de phage bivalent (pour A et B).

Déferescence totale et définitive.

Le bubon se résorbe.

OBSERVATION 54. — S. B..., neuf ans. *Bubon sus-épitrochléen.*

Le bubon, sus-épitrochléen, s'accompagne d'un gros empâtement.

25 août : température : 46°.

Autohémothérapie.

Inoculation intrabubon et intraveineuse de phage bivalent, renouvelée le lendemain.

26 août : incision du phlegmon du bras.

Chute en lysis jusqu'au 31.

1^{er} septembre : élévation brutale de la température avec apparition d'un bubon secondaire axillaire.

La ponction du bubon secondaire ne montre pas de bacilles. Inoculation de phage dans ce bubon et dans la veine.

Guérison immédiate. Le bubon axillaire se résorbe sans suppuration.

Le malade sort de l'hôpital guéri, le 8 septembre.

OBSERVATION 55. — I. N. D... *Bubon crural*.

Seul survivant d'une famille dont 5 personnes sont mortes de peste sans hospitalisation.

23 août : arrivé à l'hôpital dans un état infectieux très grave; excitation qui ne permet pas de prendre la température. Le pouls est à 120.

Autohémothérapie.

Inoculation intrabubon et intraveineuse de phage bivalent.

24 août : température : 39°3. Le pouls est tombé à 104. Même traitement au phage bivalent.

Dès l'après-midi, amélioration très nette de l'état général.

Le pouls baisse en lysis. La température fait encore quelques oscillations (résorption toxique).

Guérison définitive le 30.

Le bubon, incisé le 27, ne donne qu'un peu de sérosité; cicatrisation rapide.

Guérison.

OBSERVATION 56. — M. D... *Bubon crural*.

Guérison instantanée, Chute verticale de la température de 39°7 à 37° dès la première inoculation de phage.

Le phage est renouvelé le lendemain.

OBSERVATION 57. — L. G... *Bubon cervical*.

Autohémothérapie le 25 août.

La défervescence est obtenue, dès le 26, après deux inoculations de phage intraveineux et intrabubon.

Le malade présente de la bronchite, avec présence de pneumocoques dans les crachats. Cette complication provoque quelques ascensions vespérales du thermomètre jusqu'au 5 septembre.

OBSERVATION 58. — C. L... *Bubon cervical*.

Autohémothérapie le 25 août.

Défervescence en lysis de la température et du pouls à la suite de deux injections de phage intraveineux et intrabubon.

Le bubon est incisé le 31.

Le malade sort de l'hôpital, guéri, le 10 septembre.

OBSERVATION 59. — M. D... *Bubon crural*.]

Vieillard cachectique, arrivé à l'hôpital le 27 août, avec une température de 39°8.

L'infection pesteuse cède en quarante-huit heures à deux inoculations de phage intraveineux et intrabubon. Mais la convalescence est trainante en raison de l'état général antérieur.

Le malade quitte l'hôpital le 17 septembre.

OBSERVATION 60. — N. G. S..., cinq ans. *Bubon crural double*.

Température à l'entrée de l'hôpital : 40°.

Chute en lysis rapide, à la suite de deux inoculations de phage monovalent, intraveineux et dans les deux bubons, qui se résorbent.

Guérison obtenue en trois jours.

OBSERVATION 61. — M. M. B. S... *Bubon crural*.

Malade très infecté. Température : 40°2. Pouls : 130.

Déferescence en lysis et retour du pouls à la normale, à la suite d'auto-hémothérapie et de deux inoculations de phage 4, monovalent, intraveineux et bubon.

OBSERVATION 62. — F. N. G..., dix ans. *Bubon crural*.

Admis à l'hôpital avant tout symptôme de peste.

Traité dès l'apparition du bubon, par inoculation de phage intraveineux et intrabubon.

Déferescence verticale de 40° à 37°4.

Le bubon se résorbe.

Guéri en quarante-huit heures.

OBSERVATION 63. — D. B..., sept ans. *Bubon du creux poplité*.

Après autohémothérapie, inoculation de phage bivalent sous-cutané et intrabubon.

Chute de la température de 40°5 à 38°2.

Après quelques oscillations autour de 38°, la guérison définitive est obtenue avec résorption du bubon.

OBSERVATION 64. — I. N..., douze ans. *Bubon crural*.

Guérison en trois jours après traitement par autohémothérapie et inoculation de phage dans la veine et dans le bubon, les 4 et 5 septembre.

A noter une ascension thermique (résorption toxique?) le 7, sans accélération correspondante du pouls.

OBSERVATION 65. — M. S... *Bubon crural*.

Température : 40°3 à l'entrée.

10 septembre : autohémothérapie. Inoculation de phage intraveineux et intrabubon.

La température tombe de 1°.

11 septembre : même inoculation de phage.

13 septembre : la température et le pouls sont normaux.

La déferescence complète est obtenue le 18, après quelques oscillations entre 37° et 38°.

Bubon résorbé sans suppuration.

OBSERVATION 66. — B. K... *Bubon cervical et bubon crural*.

12 septembre : malade en très mauvais état à l'entrée à l'hôpital.

Gros œdème cervical et bubon crural.

Température : 40°5. Pouls à 130.

Autohémothérapie, phage bivalent, intraveineux et intrabubonique.

15 septembre : la température, qui avait fait une chute à 38°, remonte à 39°5. Nouvelle inoculation de phage intraveineux. L'état général est rapidement amélioré, mais la défervescence définitive n'est obtenue que lentement. Le bubon crural suppure. L'œdème cervical se résorbe.

*(Travail du Laboratoire de l'École de Médecine
et de l'Hôpital indigène de Dakar,
janvier-octobre 1931.)*

SUR LA FRÉQUENCE ET LES MODALITÉS DU CANCER CHEZ LES ANNAMITES DU TONKIN.

par J. BABLET.

(*Institut Pasteur d'Hanoï.*)

Nous avons exposé précédemment dans ces *Annales* (1) les résultats d'une enquête menée en 1924-1925 par l'Institut Pasteur de Saïgon sur la sensibilité au cancer des Annamites de Cochinchine et les aspects histologiques des tumeurs malignes qu'ils présentent. Portant sur un petit nombre de cancéreux hospitalisés, cette étude constituait, à nos yeux, un premier coup de sonde que devaient suivre, à brève échéance, de nouvelles recherches. Celles-ci ont été poursuivies depuis le 1^{er} janvier 1926 à l'Institut Pasteur d'Hanoï, dans le même esprit et les mêmes conditions que les précédentes. Elles se rapportent exclusivement cette fois aux Annamites du Tonkin. Le matériel examiné au cours de cinq années consécutives a pu être prélevé le plus souvent par biopsie ou au cours d'interventions chirurgicales grâce à l'obligeant concours des D^{rs} Le Roy des Barres et Degorce, qui ont bien voulu nous faire bénéficier à cette occasion de leur grande expérience.

*
* *

La fréquence des tumeurs malignes au Tonkin avait été signalée, dès 1909, par Le Roy des Barres (2) qui, sur 48.345 entrées à l'hôpital du Protectorat de 1902 à 1908, relevait 164 cas de cancer, soit une proportion de 0,38 p. 100.

Une étude plus complète (3) du même auteur donnait pour

(1) J. BABLET, Sur la fréquence et les modalités du cancer chez les Annamites de Cochinchine. Ces *Annales*, novembre 1926, p. 922.

(2) LE ROY DES BARRES, Note sur la fréquence des tumeurs malignes au Tonkin. *Revue médicale de l'Indochine*, 1909, p. 243.

(3) LE ROY DES BARRES, Le cancer au Tonkin. *Revue de médecine et hygiène tropicales*, 1923.

les années 1906 à 1922 le chiffre des tumeurs malignes observées chez les Européens et chez les indigènes hospitalisés à Hanoï. Le pourcentage des cancéreux, par rapport au chiffre total des malades, atteignait un maximum de 1,7 p. 100 en 1922 pour les Annamites; il était de 0,35 p. 100 chez les Européens pour la période 1916-1922. La fréquence du cancer de la verge et des néoplasmes du foie est signalée dans ce travail ainsi que la rareté relative des cancers de la bouche.

Entre temps, Degorce (1) avait rassemblé dans un exposé très documenté 444 cas de cancers observés de 1906 à 1912 à l'hôpital indigène d'Hanoï. La proportion par rapport aux entrées était de 6,28 p. 1.000, 299 cas avaient été notés chez des hommes, 137 chez des femmes, 8 chez des enfants.

Les examens histologiques n'ayant porté que sur un nombre restreint de cas, Degorce classait les tumeurs observées d'après leur localisation. Il nota la fréquence et le type spino-cellulaire des épithéliomas de la verge (17 p. 100), la rareté des tumeurs du sein, des néoplasmes de la cavité buccale et du tube digestif (contrastant avec une proportion importante d'ulcères gastriques), la fréquence des cancers du foie (8 p. 100), des épithéliomas utérins et des tumeurs du cou. Parmi ces dernières, l'auteur insiste particulièrement sur les « lymphocytomes » de la région carotidienne qu'il hésitait à ranger parmi les cancers malgré leur caractère envahissant et destructeur.

La collaboration des médecins de l'hôpital du Protectorat, à Hanoï, et d'un certain nombre de confrères de province, nous a permis, au cours des cinq dernières années, d'examiner 2.131 tumeurs humaines suspectées de malignité. Sur ce nombre 839 diagnostics de cancers ont été confirmés par le laboratoire d'histopathologie.

55 concernaient des Européens : nous les éliminons de cet exposé.

784 se rapportaient à des Annamites du Tonkin et ont fait l'objet d'une étude clinique, histologique et parfois bactériologique.

L'ensemble des renseignements recueillis a permis d'établir d'une part une classification basée sur les caractères microscopiques.

(1) DEGORCE, Contribution à l'étude des tumeurs chez les Annamites du Tonkin. III^e Congrès de l'F. E. A. T. M., Saïgon, 1913, p. 432.

TABLEAU A.

LOCALISATION		HOMMES	FEMMES	TOTAL	PROPORTION p. 1.000	AGE moyen
1° Cancers de lignée épithéliale.						
Epithéliomas épidermiques spino-cé- lulaires	Verge, vulve, vagin, bouche, téguments.	314	129	440	645	48 ans.
Epithéliomas épidermiques baso- cellulaires	Col utérus, face, cuir chevelu, peau.	15	47	62	91	45 ans.
Epithéliomas glandulaires.	Sein, utérus, ovaire, glandes salivaires, thyroïde, rein, glandes gastriques, intestinales, foie.	28	108	136	200	46 ans.
Epithéliomas glandulaires mé- tastatiques	Tumeurs mixtes malignes. . .	1	2	3	4	35 ans.
Epithéliomas du type séminifère	Séminomes du testicule. . . .	5	»	5	7	37 ans.
Dysembryomes malins	Branchiomes cervicaux, épithé- liomas adamantins, épithé- liomas wolffiens, chorio-épi- théliome, tumeur du blastème rénal	14	11	25	36	45 ans.
Lympho-épithéliomes.	Naso-pharynx	2	»	2	3	38 ans.
Névo-épithéliomes	Téguments	5	1	6	9	39 ans.
Neuro-épithéliomes	Œil	2	0	2	3	
Total des cancers épithéliaux		383	298	681		

TYPE HISTOLOGIQUE	LOCALISATION	HOMMES	FEMMES	TOTAL	PROPORTION p. 1.000	AGE moyen
2° <i>Cancers d'origine et d'évolution mésenchymateuse.</i>						
Sarcomes fibroblastiques	Membres, thorax, paroi abdominale, crâne, face, poulmon, ovaire	14	13	27	260	36 ans.
Sarcomes myoblastiques	Thorax, dos, membres bassin	3	2	5	48	38 ans.
Sarcomes chondroblastiques	Bras	1	»	1	9	40 ans.
Sarcomes squelettogènes	Membres maxillaires	9	1	10	400	34 ans.
Sarcomes lymphoblastiques et lymphocytomes malins	Cou, orbite, palais, estomac, intestin	16	9	25	240	32 ans.
Sarcomes myéloblastiques	Abdomen, crâne	2	»	2	19	38 ans.
Réticulo-sarcomes et histiocytomes malins (xanthosarcomes)	Cou, orbite, paupière, rate	23	4	27	287	36 ans.
Myxo-sarcomes ou myxomes malins	Face, creux poplité	1	2	3	27	29 ans.
Sarcomes indéterminés	Généralisés	1	»	1	9	32 ans.
Chiffre total des sarcomes		70	31	101		
Granulomatose maligne	Cou, aisselle, aine	2	»	2		

Age moyen des sarcomes : 34 ans, avec comme extrêmes 2 et 72 ans.

piques, d'autre part la proportion relative des diverses localisations, leur répartition suivant l'âge et suivant le sexe.

**Répartition des tumeurs malignes observées
en 1926-1931 à l'Institut Pasteur d'Hanoï.**

DIAGNOSTIC histologique	EUROPÉENS		ANNAMITES		ANIMAUX
	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes	
Epithéliomas.	26	25	375	297	3
Neuromes et mélanomes. .	1	1	7	1	1
Sarcomes	2	0	72	30	9
Granulomatose maligne . .	0	0	2	0	1
Total des cinq années .	29	26	456	328	14
	55		784		
	839				
	833				

*
* *

La première constatation intéressante de cette enquête est la proportion élevée de tumeurs d'origine et d'évolution mésenchymateuse. Sur 784 néoplasmes malins, nous avons relevé 101 sarcomes et 681 épithéliomas. La proportion est donc de 1 p. 7, inférieure à celle que nous avons notée en Cochinchine (1 p. 4) mais sensiblement plus élevée que le pourcentage habituel des pays tempérés (5 p. 100 environ).

Le tableau A donne le détail des variétés histologiques rencontrées, la classification adoptée tenant compte, suivant la conception de P. Masson, de la morphologie et des affinités familiales des éléments tumoraux.

Les épithéliomas épidermiques du type spino-cellulaire sont en très grande majorité (plus de la moitié de la totalité des cancers).

Les épithéliomas glandulaires constituent également un groupe important (1/3 des tumeurs épithéliales).

Nous avons rassemblé sous l'étiquette « dysembryomes malins » un nombre relativement élevé de tumeurs d'aspect très

divers mais vraisemblablement développées aux dépens de vestiges embryonnaires : branchiomes de la région cervicale, épithéliomas adamantins de la mâchoire, tumeurs wolffiennes des glandes génitales, chorio-épithéliomes utérins, tumeur du blastème rénal. La fréquence de ces néoplasmes est évidemment en rapport avec celle des malformations congénitales et des hétérotopies organiques.

Le chiffre des nævo-épithéliomes est très supérieur à celui qu'on admet habituellement pour les races colorées et en particulier à celui que nous avons relevé en Cochinchine.

Dans le groupe des tumeurs conjonctives plus de la moitié des cas observés méritent le nom de sarcomes ganglionnaires, soit qu'ils aient pris naissance aux dépens des éléments folliculaires du ganglion (sarcomes lymphoblastiques ou lymphocytomes malins), soit qu'ils reconnaissent pour origine le tissu réticulo-endothélial (réticulo-sarcomes et histiocytomes malins).

Viennent ensuite dans l'ordre numérique les sarcomes fibroblastiques, squelettogènes, myoblastiques, myéloblastiques et myxomes malins. Le sarcome chondroblastique n'a été observé qu'une fois.

En marge des sarcomes — dont ils se rapprochent par la morphologie de leurs éléments caractéristiques, les cellules de Sternberg — nous avons classé 2 cas de granulomatose maligne, dont la place dans la nosologie n'est pas encore nettement déterminée.

*
* *

Le tableau B classe les cancers observés suivant leur localisation.

Il met en relief le chiffre élevé des cancers des organes génitaux externes, qui s'attaquent de préférence au sexe masculin (dans la proportion de 10 contre 1). Le pourcentage indiqué (30 p. 100) n'est pas tout à fait exact, car les porteurs de tumeurs de la verge viennent volontiers au chirurgien dont ils attendent la guérison d'une infirmité fort gênante tandis que d'autres cancéreux présentant des lésions à localisation plus discrète ne réclament point les soins du praticien. Quoi qu'il en soit, cette localisation présente chez l'Annamite du Tonkin une fréquence qui n'a été notée jusqu'à présent que dans l'Inde anglaise et qui

TABLEAU B. — Cancers diagnostiqués à l'Institut Pasteur d'Hanoi (1926-1931)
classés suivant l'âge, le sexe, la localisation (Annamites).

	NOMBRE DE CAS				PROPORTION p. 1.000	AGE MOYEN		
	Hommes	Femmes	Enfants	Total		Hommes	Femmes	Ensemble
Cancers des organes génitaux externes.	216	22	»	238	303	48 ans.	41 ans.	44 ans.
Cancers du crâne et de la face.	58	54	7	119	151	43 ans.	41 ans.	42 ans.
Cancers du sein.	1	68	»	69	88	57 ans.	48 ans.	48 ans.
Cancers de la région cervicale.	48	49	»	67	85	45 ans.	49 ans.	47 ans.
Cancers de l'utérus.	»	64	»	64	81	»	42 ans.	42 ans.
Cancers de la cavité buccale.	32	28	»	60	76	45 ans.	51 ans.	48 ans.
Cancers des membres.	36	46	1	53	66	43 ans.	38 ans.	41 ans.
Cancers des parois thoraciques et abdominales.	42	41	2	25	31	35 ans.	29 ans.	32 ans.
Cancers du foie.	15	2	»	17	21	36 ans.	27 ans.	35 ans.
Cancers de l'ovaire.	»	46	»	46	20	»	41 ans.	41 ans.
Cancers de l'estomac.	9	7	»	16	20	44 ans.	46 ans.	45 ans.
Cancers de l'intestin.	5	2	»	7	8	39 ans.	54 ans.	43 ans.
Cancers de l'appareil respiratoire (fosses nasales, poumon).	2	3	»	5	6	35 ans.	39 ans.	37 ans.
Cancers du testicule.	5	»	»	5	6	37 ans.	»	37 ans.
Cancers du rein.	4	1	1	3	3	26 ans.	51 ans.	34 ans.
Cancers généralisés (d'origine imprécise).	8	10	2	20	25	38 ans.	40 ans.	39 ans.
Total	448	323	43	784				

Age moyen des cancers observés : 43 ans.
--

Âge moyen des cancers observés : 43 ans.

paraît en relation avec le phimosis congénital et la malpropreté.

Les cancers du sein et de l'utérus semblent un peu moins fréquents que dans les pays tempérés, et les chiffres observés au Tonkin ne diffèrent guère de ceux que nous avons notés en Cochinchine.

Par contre, la cancérisation de la muqueuse buccale, dont nous avons signalé la fréquence en Cochinchine (20 p. 100), est beaucoup plus rare au Tonkin (7 à 8 p. 100).

Les cancers de la région cervicale sont également moins nombreux chez l'Annamite du Tonkin bien que leur chiffre dépasse de très loin celui des statistiques européennes.

Ce sont les cancers digestifs qui offrent avec ces dernières l'écart le plus remarquable. Leur proportion, qui dépasse en Europe 50 p. 100 de l'ensemble des cancers, n'atteint pas 7 p. 100 dans nos observations. Encore, la plupart des néoplasmes relevés touchaient-ils le foie, beaucoup plus rarement atteint dans les pays tempérés que l'œsophage et l'estomac.

Quelques tumeurs de l'appareil respiratoire (fosses nasales, trachée, poumon) ont été observées : leur proportion paraît sensiblement plus faible chez l'Annamite que dans la race blanche.

*
* *

TABEAU C. — Proportion relative des principales localisations cancéreuses suivant l'âge chez les Annamites du Tonkin (1926-1931).

	ORGANES généraux externes	PEAU	TISSUS conjonctifs	SEIN	UTÉRUS	MUQUEUSE buccale	FOIE	OVAIRE	ESTOMAC	INTESTIN	TOTAL
0 à 19 ans. .	0	5	15	1	0	0	0	1	0	0	22
20 à 29 ans. .	17	14	19	4	3	3	4	1	0	2	69
30 à 39 ans. .	35	32	27	9	18	11	9	4	3	0	148
40 à 49 ans. .	74	50	19	20	25	12	3	5	7	3	218
50 à 59 ans. .	81	38	13	21	13	24	1	4	6	0	201
60 à 69 ans. .	26	24	6	13	3	5	0	1	0	2	80
70 à 79 ans. .	5	3	2	1	0	5	0	0	0	0	16
Total . .	238	166	101	69	64	60	17	16	16	7	754

457
avant
50 ans.
297
après
50 ans.

Le cancer ne paraît pas avoir au Tonkin de préférence marquée pour l'un ou l'autre sexe. Nous avons vu cependant que les organes génitaux externes de l'homme étaient plus souvent atteints que ceux de la femme, ce qui peut s'expliquer par des raisons anatomiques.

Quant à la fréquence de la localisation hépatique dans le sexe masculin, elle s'observe sous toutes les latitudes et paraît conditionnée par l'usage habituel, sinon l'abus, de l'alcool.

En ce qui concerne l'âge, on peut remarquer tout d'abord la fréquence, au Tonkin, du sarcome chez le jeune enfant (sarcome lymphoblastique de l'orbite en particulier).

Dans l'ensemble, l'âge moyen du cancer est nettement abaissé : quarante-six ans pour les épithéliomas, trente-quatre ans pour les sarcomes, quarante-trois ans pour la totalité des tumeurs malignes observées.

457 cancers, soit environ les deux tiers, ont apparu avant la cinquantième année.

Les porteurs de néoplasmes de moins de trente ans et ceux de plus de soixante ans sont en nombre sensiblement égal dans notre statistique.

Il apparaît évident que l'éclosion du cancer est plus précoce au Tonkin que dans les pays tempérés.

Le tableau D nous indique, en outre, que ce sont les cancers du foie, de l'estomac, de l'utérus, de l'ovaire qui groupent le plus grand nombre de sujets jeunes (avant cinquante ans). Les tumeurs cutanées, les néoplasmes de la verge et de la muqueuse buccale s'échelonnent aux divers âges de la vie, le cancer du sein se rencontre surtout entre quarante et soixante ans.

CONCLUSIONS.

Les résultats de notre enquête au Tonkin confirment et complètent les renseignements recueillis en Cochinchine en ce qui concerne la sensibilité au cancer de la race annamite, la proportion relative des tumeurs observées, l'âge et le sexe des porteurs.

1° D'une façon générale, on peut dire que dans la vaste plaine alluvionnaire que constitue le delta du fleuve Rouge au Tonkin, la densité du cancer ne semble pas très différente de celle qu'on observe dans les pays tempérés ;

2° L'examen histologique permet de classer dans le cadre habituel des groupes classiques les tumeurs observées qui méritent rarement une description spéciale;

3° La proportion des sarcomes par rapport aux tumeurs épithéliales est nettement augmentée;

4° Certaines localisations (verge, cou, cavité buccale) offrent chez le Tonkinois une fréquence anormale;

Les cancers digestifs, par contre, sont rarement observés. Les cancers de la peau sont également plus rares qu'en Europe;

5° Les Annamites des deux sexes paraissent également atteints;

6° L'âge du cancer est notablement abaissé, ce qui tient en partie à la fréquence des sarcomes mais aussi à la précocité des épithéliomas.

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES SUR LE BRADSOT DU MOUTON ISLANDAIS. PATHOGÉNIE ET VACCINATION.

par NIELS DUNGAL,
Professeur à la Faculté de Médecine de Reykjavik (Islande).

(*Travail du Laboratoire de M. Weinberg.*)

I

Le bradsot a été observé chez le mouton islandais depuis deux à trois siècles. Cliniquement, cette affection débute brusquement. Un mouton apparemment bien portant cesse subitement de manger; il se tient à l'écart du troupeau; il semble peiner pour suivre les autres. Cette période dure généralement de deux à douze heures; après quoi l'animal meurt presque subitement. Il est tout à fait exceptionnel qu'un mouton survive après avoir présenté des symptômes morbides. Le bradsot frappe surtout le jeune mouton de six mois à un an, plus rarement le mouton plus âgé. On l'observe surtout d'octobre à décembre à l'occasion d'une baisse subite de température.

L'affection est répandue dans toute l'Islande; elle est plus fréquente dans certaines fermes.

Au point de vue anatomo-pathologique, on observe des lésions de l'estomac siégeant surtout au niveau de la caillette: ulcérations hémorragiques d'étendue variable, œdème de la paroi gastrique, épanchement sanguin dans la cavité stomacale; on peut aussi noter, dans certains cas, une péritonite à épanchement séreux hémorragique.

C. O. Jensen (1896) a isolé, le premier, d'un cas de bradsot islandais, un microbe anaérobie qu'il a jugé identique au *B. gastromycosis ovis* décrit par L. Nielsen, en 1888, comme agent causal du bradsot du mouton norvégien. Mais Miessner (1909), étudiant le rôle étiologique du bacille de Jensen, a douté de son importance dans le bradsot et il a pensé qu'il s'agissait

d'un bacille cadavérique. Plus tard (1916), Jensen a confirmé son opinion première, en trouvant, sur les coupes de la paroi stomacale enflammée de moutons islandais atteints de bradsot et sacrifiés avant la mort, des bacilles, gardant le Gram, morphologiquement semblables au microbe qu'il avait antérieurement trouvé. Malheureusement, il n'a pu faire de recherches bactériologiques. Mentionnons que Zeissler a identifié la souche de Jensen au *Vibrion septique*.

Recherches personnelles.

Nous avons isolé six souches de microbes anaérobies dans des cas de bradsot islandais. Cinq proviennent d'animaux malades sacrifiés; une seule a été isolée d'un animal peu de temps après sa mort. Au laboratoire de M. Weinberg nous avons fait, avec J. Davesne, l'étude bactériologique et sérologique de ces six souches, comparativement avec la souche de Jensen (1).

Des six souches étudiées, l'une d'elles, par ses caractères morphologiques et culturels, et par la neutralisation du pouvoir pathogène par le sérum spécifique, a été identifiée comme *B. perfringens*. Il est intéressant de noter qu'il s'agissait dans ce cas d'un mouton âgé, atteint de pneumonie, pour lequel le diagnostic de bradsot a été fait à l'autopsie.

Les six autres souches (y compris la souche de Jensen) ont pu être identifiées au *Vibrion septique*. Les caractères morphologiques et culturels sont les mêmes que ceux de ce microbe. Au point de vue sérologique toutes ces souches ont été agglutinées par le sérum anti-*Vibrion septique*; leur toxine a été complètement neutralisée par le sérum anti-*Vibrion septique*, de même que leur pouvoir pathogène.

Aussi pouvons-nous affirmer que, si l'on trouve des cas de bradsot islandais causés par d'autres microbes que le *Vibrion septique*, il est incontestable que la majorité des cas est causée par le *Vibrion septique*, ce qui explique l'efficacité indiscutable de la vaccination pratiquée contre le bradsot islandais par un vaccin préparé avec une souche de *Vibrion septique* d'origine locale.

(1) N. DUNGAL et J. DAVESNE, Recherches bactériologiques sur l'étiologie du bradsot islandais. *C. R. Soc. de Biol.*, **107**, 1931, p. 1271.

II

La vaccination du mouton islandais contre le bradset a été pratiquée, depuis 1897, avec un vaccin préparé au Danemark au moyen d'une souche d'origine islandaise. Diverses méthodes furent employées : cultures desséchées, cultures desséchées additionnées de sérum desséché, fils de soie imbibés de spores de *Vibrion septique*. Les résultats de ces vaccinations ont été satisfaisants dans l'ensemble ; cependant, au moment de la vaccination, on observait une mortalité parfois élevée. D'autre part, la valeur des vaccins s'est montrée assez variable suivant les années.

Nous empruntons à Jensen (1916) le tableau ci-dessous qui montre les résultats obtenus de 1897 à 1906. Notons que l'efficacité de la vaccination a été d'autant plus grande qu'il est mort plus d'animaux lors de la vaccination.

VACCIN EMPLOYÉ	ANNÉES	TÉMOINS non vaccinés	VACCINÉS	MORTS de vaccination p. 100	MORTS de bradset p. 100	PERTE TOTALE p. 100
Cultures desséchées.	1897-1906	43.576	208.805	1,45	0,32	1,77
	1903-1906				4,22	4,21
Cultures + sérum.	1902-1906	20.872	52.307	0,03	1,93	1,96
	1903-1906				5,01	5,04
Fils de soie imbibés de spores.	1902-1906	9.326	15.934	0,03	4,65	4,68
	1903-1906				5,80	5,80
Total . .	Témoins.	43.774				4,95
	Vaccinés.		277.046	1,05	0,97	2,02

Dans les années suivantes, c'est le vaccin culture-+sérum qui a été employé (vaccin danois). Mais, dans ces dernières années, les fermiers islandais ont remarqué que les vaccinations devenaient moins efficaces. Il n'existe malheureusement pas de statistique à ce sujet ; l'opinion, dans les milieux d'élevage, était unanime à reconnaître que la résistance à l'infection était très faible, parfois même après plusieurs vaccinations.

Nous avons alors tenté de préparer un vaccin qui, bien qu'efficace, ne provoque pas une mortalité trop élevée au moment de la vaccination. A la suite des travaux de Ramon sur l'atténuation des toxines par le formol, de ceux de Weinberg et de ses collaborateurs sur l'emploi des cultures formolées (anacultures) dans la préparation des sérums antigangréneux, et des essais de vaccination de Mac Ewen par des cultures formolées de *Vibrien* septique, nous avons préparé un vaccin en formolant des cultures provenant d'un bacille du bradsot isolé par nous-même dans un cas typique.

Rappelons que l'intérêt de la vaccination du mouton contre le bradsot réside dans la rapidité de l'immunité obtenue. Quand la maladie éclate, elle cause très rapidement de grands ravages. De plus, l'importance des troupeaux (100 à 800 têtes en général) exige que la vaccination soit, si possible, pratiquée en un seul temps.

Nous avons donc formolé à 5 p. 1.000, selon la méthode de Mac Ewen, des cultures de vingt-quatre heures que nous avons laissées six jours à l'étuve. L'injection, au mouton, de 1/2 cent. cube et de 1 cent. cube de culture totale ainsi formolée n'a provoqué chez l'animal aucune réaction; mais, éprouvés huit et quatorze jours plus tard avec une culture virulente de *Vibrien* septique injectée sous la peau, les animaux vaccinés ont succombé comme les témoins.

Puis, nous avons constaté que les pouvoirs toxique et infectieux des cultures étaient détruits avec une dose de formol moins élevée : 2,5 p. 100, et même 2 p. 1.000. Injecté à des doses de 1/2 à 4 cent. cubes, ce nouveau vaccin, obtenu en formolant à 2 p. 1.000 des cultures de vingt-quatre heures laissées vingt-quatre heures à l'étuve après le formolage, n'a produit chez le mouton qu'une légère réaction locale avec une boiterie passagère. 30 agneaux reçurent, par voie sous-cutanée, 1/2 cent. cube de ce vaccin. Aucun n'a succombé à l'injection du vaccin. Eprouvés huit jours plus tard avec 1 cent. cube de culture virulente, ils ont survécu, alors que les témoins sont morts.

En présence de ces résultats favorables, nous avons prié quelques fermiers d'essayer ce vaccin; ils s'en sont montrés satisfaits. Au cours de l'année 1929, nous avons distribué plus de

4.000 doses de vaccin. Nous n'avons pu avoir de renseignements que sur 2.400 vaccinations :

	NOMBRE de vaccinés	MORTS dus à la vaccination	MORTS de bradsot	MORTALITÉ globale p. 100
Vaccin formolé .	2.271	3 (0,13 p. 100)	6 (0,20 p. 100)	0,39
Vaccin danois .	1.302	0	42	3,09

Voici les résultats obtenus par nous en l'année 1930 :

ANIMAUX VACCINÉS	MORTS dus à la vaccination	MORTS de bradsot après vaccination	MORTALITÉ globale p. 100
25.202	119 (0,47 p. 100)	190 (0,75 p. 100)	1,22

Résultats obtenus avec le vaccin danois :

4.448	0	99	2,23
-----------------	---	----	------

Cette affection est tellement sévère en Islande que les vaccinations sont très répandues et qu'on laisse exceptionnellement les agneaux non vaccinés. Voici, cependant, quelques chiffres de mortalité chez des troupeaux atteints non vaccinés :

Sur 60	5
Sur 43	11
Sur 70 (moutons âgés)	14
Sur 3 (moutons âgés).	4
Sur 2	1

En général, la mortalité des troupeaux non vaccinés est de 10 à 30 p. 100 ; le plus fort pourcentage concerne les agneaux (25 p. 100 des non vaccinés).

Les victimes du bradsot sont surtout les agneaux. Plus l'animal est âgé, plus la maladie devient rare. Cette observation permet déjà de penser qu'il existe une immunisation spontanée contre l'affection. Mais l'immunité ne s'acquiert que sur les terrains « à bradsot » comme le montre l'expérience des fermiers écossais. Voulant sauvegarder les agneaux, ils les ont évacués pendant l'hiver (période où règne le bradsot en Ecosse) dans le sud de l'Angleterre où la maladie ne sévit pas, et ils ont constaté à leur retour que, plus âgés, les animaux ayant hiverné ne résistaient pas plus à l'affection que les animaux jeunes.

Il semble donc, ce que nos expériences de vaccination sur le mouton ont déjà nettement mis en évidence, qu'il suffise d'obtenir, au moment où règne le bradsot et chez le jeune mouton, un léger degré d'immunité pour que l'animal puisse résister à l'infection spontanée.

Nous avons cependant fait quelques recherches expérimentales pour établir si le vaccin que nous avons préparé pouvait donner à l'animal une immunité plus solide se traduisant par la résistance à l'injection de plusieurs doses mortelles de culture.

Nos expériences ont été effectuées sur le cobaye et la souris.

VACCINATION CHEZ LE COBAYE. — Dans une première expérience, 5 cobayes vaccinés par voie intramusculaire avec 1/2 cent. cube de culture formolée à 2,5 p. 1.000 et laissée deux jours à l'étuve après le formolage ont été éprouvés trois semaines plus tard avec 1/10 de cent. cube de culture de vingt-quatre heures en bouillon glucosé (injection intramusculaire de 1 cent. cube d'une dilution de la culture à 1/10). Ces 5 animaux sont morts en dix-sept heures à trente-six heures. Deux témoins injectés avec la même dose sont morts en dix-sept heures.

Nous avons pensé que la dose d'épreuve était trop forte et, dans une seconde expérience, 8 cobayes vaccinés de la même façon que ceux de l'expérience précédente ont reçu, un mois après la vaccination, 1/20 de centimètre cube de culture à l'injection d'épreuve. Ils ont tous survécu, alors que, de 4 cobayes témoins, 3 sont morts.

Voici une dernière expérience de vaccination chez le cobaye : 13 animaux ont été vaccinés avec 1/4 de centimètre cube d'une culture de vingt-quatre heures formolée à 5 p. 1.000 et laissée deux jours à l'étuve après l'addition de formol. L'injection d'épreuve a donné, deux semaines après la vaccination, les résultats suivants :

Sur 6 vaccinés ayant reçu à l'injection d'épreuve 1/100 cent. cube : 0 mort.

Sur 7 vaccinés ayant reçu à l'injection d'épreuve 1/50 cent. cube : 3 morts.

Sur 6 témoins ayant reçu à l'injection d'épreuve 1/100 cent. cube : 1 mort.

Sur 6 témoins ayant reçu à l'injection d'épreuve 1/30 cent. cube : 2 morts.

Ces expériences montrent qu'il est possible d'obtenir chez le cobaye, avec une seule injection de culture totale for-

molée à 2,5 p. 1.000, une immunité suffisante pour que l'animal puisse résister à l'injection d'épreuve d'une dose mortelle limite.

VACCINATION DE LA SOURIS. — En présence de la difficulté que nous éprouvions à nous procurer des cobayes en nombre suffisant pour nos expériences, nous avons poursuivi nos recherches en utilisant la souris. Cet animal est très sensible au Vibrion septique; son emploi permet de choisir des sujets de poids à peu près égal et de multiplier les animaux d'expérience en utilisant un espace restreint, ce qui facilite la surveillance quotidienne des résultats.

Nous avons d'abord déterminé la dose de formol nécessaire pour faire perdre à la culture son pouvoir infectieux et sa toxicité pour la souris. Des cultures de vingt-quatre heures en bouillon glucosé ont été formolées à des taux variables : 5 p. 1.000, 2,5 p. 1.000, 1,5 p. 1.000 et 1 p. 1.000, puis laissées quarante-huit heures à l'étuve après l'addition de formol.

Notons tout de suite que toutes ces cultures ont donné desensemencements positifs, même les cultures additionnées de 5 p. 1.000 de formol et ensemencées après deux semaines d'étuve.

Les injections de culture formolée à la souris (de 15 à 20 grammes) nous ont donné les résultats suivants (lot 1) :

TAUX du formolage p. 1.000	DOSE DE CULTURE FORMOLÉE INJECTÉE en centimètres cubes	NOMBRE d'animaux injectés	NOMBRE d'animaux ayant succombé à l'injection en 48 heures
5	1/20 (1/2 d'une dilution à 1/10).	25	0
2,5	1/20 (1/2 d'une dilution à 1/10).	25	0
1,5	1/20 (1/2 d'une dilution à 1/10).	25	1
1,5	1/40 (1/4 d'une dilution à 1/10).	25	0
1	1/20 (1/2 d'une dilution à 1/10).	25	18
1	1/40 (1/4 d'une dilution à 1/10).	15	5

L'expérience précédente avait été faite en injectant à l'animal des cultures formolées *diluées*. L'expérience suivante montre

les résultats différents obtenus après l'injection de cultures formolées non diluées :

TAUX DU FORMOLAGE p. 1.000	DOSE de culture formolée injectée en centimètres cubes	NOMBRE d'animaux injectés	NOMBRE d'animaux ayant succombé à l'injection
2,5	1/20	25	1
2	1/20	25	2
1,5	1/20	25	13

Cette expérience montre qu'il n'est pas indifférent d'employer pour la vaccination une culture diluée ou une culture non diluée.

ÉPREUVES D'IMMUNITÉ. — Une certaine partie des souris, ayant résisté à l'injection des cultures totales formolées, a été éprouvée huit jours après, au point de vue de l'immunité obtenue.

Les animaux ont reçu 1/100 de cent. cube d'une culture de vingt-quatre heures.

Mais cette expérience portait sur un nombre d'animaux trop peu élevé pour permettre de tirer des conclusions.

Trois semaines après la vaccination par vaccin dilué (lot n° 1), nous avons éprouvé l'immunité d'un certain nombre de souris restantes. Les résultats suivants ont été obtenus :

Témoins :

- 1/10 cent. cube de culture : 6 injectées, 6 mortes.
- 1/50 cent. cube de culture : 6 injectées, 4 mortes (2 souris de plus de 25 grammes ont survécu).
- 1/100 cent. cube de culture : 6 injectées, 5 mortes.
- 1/200 cent. cube de culture : 6 injectées, 1 morte.
- 1/500 cent. cube de culture : 6 injectées, 0 morte.
- 1/400 cent. cube de culture : 6 injectées, 0 morte.

Vaccinées (culture formolée, quarante-huit heures d'éluve) :

- 5 p. 1.000 (dil.). { 1/25 cent. cube : 3 injectées, 3 mortes.
- { 1/50 cent. cube : 3 injectées, 3 mortes.
- { 1/100 cent. cube : 3 injectées, 1 morte.
- { 1/50 cent. cube : 3 injectées, 1 morte.
- 2,5 p. 1.000 (dil.). { 1/100 cent. cube : 3 injectées, 1 morte.
- { 1/200 cent. cube : 3 injectées, 1 morte (12 grammes).

1,5 p. 1.000 (dil.)	{	1/50 cent. cube : 3 injectées, 1 morte.
[1/20 cent. cube].		1/100 cent. cube : 3 injectées, 1 morte.
		1/200 cent. cube : 3 injectées, 1 morte (48 heures).
		1/25 cent. cube : 3 injectées, 2 mortes.
1,5 p. 1.000 (dil.)	{	1/50 cent. cube : 3 injectées, 3 mortes.
[1/40 cent. cube].		1/100 cent. cube : 3 injectées, 0 morte.
		1/200 cent. cube : 3 injectées, 0 morte.
		1/25 cent. cube : 3 injectées, 3 mortes.
1 p. 1.000 (dil.)	{	1/50 cent. cube : 3 injectées, 0 morte.
[1/40 cent. cube].		1/100 cent. cube : 3 injectées, 0 morte.

Souris éprouvées deux semaines après vaccination :

Culture formolée	{	1/25 cent. cube : 3 injectées, 3 mortes.
à 2,5 p. 1.000 (non dil.)		1/50 cent. cube : 3 injectées, 2 mortes.
[1/20 cent. cube].		1/100 cent. cube : 3 injectées, 1 morte.
		1/200 cent. cube : 3 injectées, 0 morte.
Culture formolée	{	1/300 cent. cube : 3 injectées, 0 morte.
à 2,5 p. 1.000,		1/10 cent. cube : 3 injectées, 2 mortes.
24 heures d'étuve		1/50 cent. cube : 3 injectées, 2 mortes.
(dil.)		1/100 cent. cube : 3 injectées, 0 morte.
Culture formolée	{	1/200 cent. cube : 3 injectées, 0 morte.
à 1,5 p. 1.000 (non dil.)		1/300 cent. cube : 2 injectées, 0 morte.
[1/20 cent. cube].		1/10 cent. cube : 3 injectées, 3 mortes.
		1/50 cent. cube : 3 injectées, 2 mortes.
		1/100 cent. cube : 3 injectées, 2 mortes.

A. 100 souris ont été vaccinées avec 1/2 centimètre cube de culture de vingt-quatre heures formolée à 2,5 p. 1.000 et laissée quarante-huit heures à l'étuve, 8 sont mortes après l'épreuve. Les autres ont reçu après douze jours :

25 souris, 1/100 cent. cube de culture de 24 heures : 18 mortes en 48 heures.
 25 souris, 1/150 cent. cube de culture de 24 heures : 10 mortes en 48 heures.
 25 souris, 1/200 cent. cube de culture de 24 heures : 4 mortes en 48 heures.
 Les autres souris n'ont pas été éprouvées (aucune n'est morte en 48 heures)

B. 100 souris vaccinées avec 1/20 de centimètre cube de culture formolée à 5 p. 1.000.

Aucune n'est morte après vaccination.

Elles ont reçu, éprouvées douze jours après vaccination :

25 souris, 1/100 cent. cube de culture de 24 heures : 19 mortes.
 25 souris, 1/150 cent. cube de culture de 24 heures : 15 mortes.
 25 souris, 1/200 cent. cube de culture de 24 heures : 8 mortes.
 Les 25 témoins non injectés sont restés vivants.

Témoins :

25 souris, 1/100 cent. cube de culture de 24 heures : 20 mortes.

25 souris, 1/150 cent. cube de culture de 24 heures : 15 mortes.

25 souris, 1/200 cent. cube de culture de 24 heures : 12 mortes.

Nous voyons par cette expérience que la vaccination la plus favorable est celle produite par l'injection de culture formolée à 2,5 p. 1.000. De plus, les bons effets de la vaccination se manifestent surtout chez les souris éprouvées avec la dose limite mortelle. Nos expériences montrent bien que l'animal acquiert rapidement une immunité suffisante pour lutter contre une infection moyenne, ce qui confirme les résultats obtenus chez le mouton.

Résistance des souris vaccinées à l'injection intraveineuse de toxine :

Témoins :

3 souris, 1/50 cent. cube : 3 mortes en 1 à 2 heures.

3 souris, 1/100 cent. cube : 3 mortes en 3 à 12 heures.

2 souris, 1/200 cent. cube : 1 morte en 1 h. 1/2; 1 en 10 heures.

2 souris, 1/300 cent. cube : 1 morte en 36 heures; 1 a survécu.

2 souris, 1/400 cent. cube : 1 morte en 3 jours; 1 a survécu.

*Souris vaccinées avec 1/20 cent. cube de culture formolée à 5 p. 1.000 .
(48 heures d'étuve), éprouvées 12 jours après :*

1 souris, 1/10 cent. cube : morte en 3 minutes.

1 souris, 1/20 cent. cube : morte en 18 heures.

2 souris, 1/50 cent. cube : 2 mortes en 3 et 60 minutes.

2 souris, 1/100 cent. cube : 2 mortes en 65 et 45 minutes.

*Souris vaccinées avec 1/20 cent. cube de culture formolée à 2,5 p. 1.000
(48 heures d'étuve), éprouvées 7 jours après :*

2 souris, 1/50 cent. cube : 2 mortes en 1 heure.

4 souris, 1/100 cent. cube : 3 mortes en 45 minutes, 3 heures et 24 heures
1 a survécu.

2 souris, 1/200 cent. cube : ont survécu.

1 souris, 1/300 cent. cube : a survécu.

Souris vaccinées avec le même vaccin, mais éprouvées 12 jours après :

2 souris, 1/50 cent. cube : 2 mortes en 1 heure.

2 souris, 1/100 cent. cube : 2 mortes dans la nuit.

*Souris vaccinées avec 1/20 cent. cube de culture formolée à 1 p. 100
(48 heures d'étuve), éprouvées 13 jours après.*

Témoins :

2 souris, 1/100 cent. cube : 2 mortes en 1 et 2 jours;
2 souris, 1/200 cent. cube : ont survécu.

Vaccinées :

2 souris, 1/50 cent. cube : 2 mortes en 3 h. 1/2.
2 souris, 1/100 cent. cube : 2 mortes en 3 et 24 heures.

*Souris vaccinées avec 1/20 cent. cube de culture formolée à 1,5 p. 1.000
(48 heures d'étuve) éprouvées 13 jours après :*

2 souris, 1/100 cent. cube : 2 mortes en 24 heures.
2 souris, 1/200 cent. cube : 1 morte en 48 heures; 1 a survécu.

VALEUR COMPARATIVE DE LA VACCINATION PAR CULTURE TOTALE FORMOLÉE OU PAR TOXINE FORMOLÉE.

400 souris ont reçu 1, 20 de centimètre cube de toxine centrifugée (culture de vingt-quatre heures centrifugée formolée à 2,5 p. 1.000 et laissée à l'étuve pendant quarante-huit heures).

Un autre lot de 89 souris a reçu 1/20 de centimètre cube de culture totale formolée à 2,5 p. 100 et laissée quarante-huit heures à l'étuve.

Après quatorze jours, nous avons obtenu les résultats suivants après l'injection d'épreuve :

SOURIS VACCINÉES AVEC LA TOXINE	SOURIS VACCINÉES avec la culture totale	SOURIS VACCINÉES avec la toxine formolée
1/50 cent. cube de culture de 24 heures : 13 mortes sur 15 (48 heures) . . .	14 mortes sur 15.	13 mortes sur 15.
1/100 cent. cube de culture de 24 heures : 12 mortes sur 15 (48 heures) . . .	8 mortes sur 15.	13 mortes sur 15.
1/200 cent. cube de culture de 24 heures : 6 mortes sur 15 (48 heures) . . .	1 morte sur 15.	4 mortes sur 15.
DOSE DE TOXINE CENTRIFUGÉE	SOURIS VACCINÉES avec la culture totale	SOURIS VACCINÉES avec la toxine formolée
1/25 cent. cube : 15 mortes sur 15 .	15 mortes sur 15.	15 mortes sur 15.
1/50 cent. cube : 11 mortes sur 15 .	7 mortes sur 15.	10 mortes sur 15.
1/100 cent. cube : 5 mortes sur 15 .	2 mortes sur 4.	4 mortes sur 15.

Ces expériences montrent que la culture totale formolée (anaculture) vaccine plus activement la souris contre le *Vibron* septique que la toxine centrifugée et formolée.

CONCLUSIONS.

Nous avons établi, avec J. Davesne, que le bradsot du mouton islandais est causé, dans l'immense majorité des cas, par le *Vibron* septique. Depuis longtemps, on a utilisé en Islande plusieurs vaccins pour protéger le mouton contre cette maladie. Le premier vaccin utilisé, préparé par Jensen avec une souche isolée chez un mouton mort de bradsot, a donné des résultats assez bons, mais inconstants.

Pour notre part, nous avons utilisé comme vaccin la culture totale formolée n'ayant pas complètement perdu ses pouvoirs toxique et infectieux. Le déchet de la vaccination est variable. Ainsi en 1929, sur 2.271 vaccinés, nous en avons perdu 3 (0,13 p. 100) par suite de la vaccination; en 1930, sur 25.202 nous en avons perdu 119 (0,47 p. 100) dans les mêmes conditions.

La mortalité totale chez les animaux vaccinés (animaux morts pendant et après vaccination) s'élève à 0,39 p. 100 en 1929 et à 1,22 p. 100 en 1930. Faisons remarquer que la mortalité moyenne, parmi les moutons non vaccinés, est de 10 à 30 p. 100.

Nous avons profité de notre séjour au laboratoire de M. Weinberg pour vérifier si cette vaccination est applicable aux animaux de laboratoire, en particulier à la souris.

Nous avons d'abord établi que la culture de *Vibron* septique formolée à 2,5 p. 1.000 et laissée pendant quarante-huit heures à l'étuve donne parfois un léger déchet pendant la vaccination, à la dose de $1/20$ de centimètre cube. Nous avons aussi remarqué que cette dose est moins nocive, lorsqu'elle est diluée dans de l'eau physiologique ($1/2$ cent. cube d'une dilution à 1 p. 10) que lorsqu'elle n'est pas diluée.

Les expériences que nous avons pratiquées sur un grand nombre d'animaux (souris) montrent qu'il est possible de leur conférer une certaine résistance vis-à-vis du *Vibron* septique. Pour ne citer que deux exemples, les souris vaccinées avec $1/20$ de centimètre cube de vaccin (culture totale formolée à

2,5 p. 1.000 et laissée quarante-huit heures à l'étuve) ont donné 1 souris morte sur 15 éprouvées quatorze jours après la vaccination avec 1/200 de centimètre cube de culture virulente, alors que parmi les témoins 6 souris sur 15 sont mortes; dans une deuxième expérience pratiquée dans les mêmes conditions, avec cette différence que les animaux ont été éprouvés douze jours après vaccination, de 25 souris témoins, 12 sont mortes, alors que sur 25 vaccinées, 4 seulement ont succombé. Il est donc évident qu'un nombre important des souris traitées dans des conditions comparables à celles dans lesquelles nous avons vacciné le mouton en Islande a montré une résistance réelle à l'infection par le Vibrion septique.

Si l'on pense que la souris est beaucoup plus sensible que le mouton au Vibrion septique, et que d'autre part l'épreuve faite au laboratoire avec une culture injectée par voie intramusculaire est beaucoup plus sévère que l'infection naturelle, on doit considérer ces résultats comme satisfaisants.

Ainsi, les expériences que nous avons effectuées sur la souris confirment nos recherches précédentes sur le mouton islandais. Il est possible de vacciner aussi bien le mouton que la souris avec un vaccin représenté par la culture totale formolée dont les pouvoirs toxique et infectieux ne sont pas complètement abolis, et qui quelquefois, mais rarement, provoque la mort pendant la durée de la vaccination.

Ce qui est particulièrement intéressant au point de vue pratique, c'est que l'immunité est obtenue rapidement, en douze à quatorze jours, et après une seule injection de vaccin.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA MÉNINGITE CÉRÉBRO-SPINALE,

par MM. le professeur P. ZDRODOWSKI et le Dr E. VORONINE.

*(Section épidémiologique
de l'Institut de Médecine expérimentale de Léninegrad.
Chef de la section : P. ZDRODOWSKI.)*

L'état actuel de la méningococcie expérimentale.

La plupart des auteurs affirment qu'on ne peut reproduire la méningite cérébro-spinale chez les animaux de laboratoire (souris, cobayes, rats, lapins), même en utilisant les voies les plus variées de l'infection expérimentale. Pourtant, en 1906, Vastenberghé et Grysez (1) prétendent qu'ils ont pu obtenir la reproduction régulière d'une méningite typique chez les lapins infectés avec le méningocoque par voie sous-durale et intracérébrale. Mais les observations apportées par ces auteurs laissent quelques doutes, car « le méningocoque » utilisé dans leurs expériences était Gram très fortement positif. Aussi Murray (1929) a-t-il très justement dit que ces expériences n'étaient guère probantes.

Rappelons que Weichselbaum a réussi à obtenir la méningite expérimentale chez un chien infecté par voie intraspinale. En employant une méthode semblable, Councilman, Mallory et Wright (1893) ont également provoqué la méningite cérébro-spinale chez les chèvres. Mais les essais ultérieurs d'autres auteurs n'ont pas confirmé les observations précitées (Lingelsheim et Leuchs, Robertson-Milné, 1906).

On le sait, des résultats plus favorables ont été obtenus dans des expériences sur les singes (Lingelsheim et Leuchs, 1906, Flexner, 1907). Flexner en particulier a démontré que, chez ces animaux, l'injection intraspinale de cultures de méningo-

(1) Ces *Annales*, 1906.

coques peut reproduire une maladie expérimentale absolument analogue à la méningite cérébro-spinale humaine, au point de vue clinique et anatomo-pathologique. De nombreux auteurs ont confirmé plus tard ces observations importantes (Mac Donald, Wollstein, Ghon, Amoss et Eberson, Jøtten, 1908-1919).

En résumé, jusqu'à présent, la méningite cérébro-spinale n'a été expérimentalement observée que chez les singes infectés par voie intraspinale, et on peut affirmer que le problème de la reproduction de la méningite expérimentale chez les animaux



FIG. 1.

de laboratoire n'a pas encore trouvé une solution suffisamment pratique.

Grâce aux recherches de nombreux auteurs, nous savons que les souris et les jeunes cobayes sont des plus sensibles vis-à-vis de méningocoques injectés par voie intrapéritonéale ou intraveineuse. En injectant dans le péritoine des quantités suffisantes de cultures virulentes de ces germes, on peut tuer ces animaux. A l'autopsie on trouve alors une péritonite avec un exsudat purulent renfermant des méningocoques. Cependant, même dans ces conditions, on n'observe qu'irrégulièrement la méningococcie généralisée (Dopter, 1921). Les cultures d'exsudat péritonéal elles-mêmes peuvent rester stériles (Murray, 1929). Evidemment, une intoxication par l'endotoxine libérée est la cause de la mort des animaux ainsi

infectés (Jøtten, 1928). Ajoutons que, d'après Dopter (1921), la détermination d'une dose minima mortelle de souche méningococcique est impossible chez le cobaye. Les recherches analogues de Murray (1929) chez la souris aboutissent à des résultats plus favorables.

Il faut remarquer en particulier que, d'après tous les auteurs, les lapins résistent à l'infection méningococcique. Ainsi on peut injecter impunément dans le péritoine ou dans la veine de ces animaux des quantités considérables de cultures méningococciques même très virulentes pour les souris.



FIG. 2.

Seuls Bruckner et Christianu (1906) ont isolé des souches de méningocoques, qui ont causé une infection généralisée mortelle chez les lapins, en injection intrapéritonéale. Mais ces observations sont exceptionnelles.

Jøtten, dans sa monographie publiée en 1918, se basant sur les observations de nombreux auteurs, écrit qu'on peut affirmer que la méningite cérébro-spinale ne peut être expérimentalement reproduite quel que soit le mode de l'infection.

Il n'est pas nécessaire d'insister sur la difficulté, dans ces conditions, d'étudier au laboratoire la méningococcie.

L'étude de la pathogénie et de l'immunité rencontre de ce fait des obstacles très sérieux, de même que l'appréciation expérimentale des sérums antiméningococciques. On peut dire

qu'étant donné le manque d'un animal d'épreuve la sérothérapie antiméningococcique reste imprécise.

Nous avons repris l'étude de la méningococcie expérimentale dont l'importance ressort de ces faits. Les résultats obtenus font l'objet de ce mémoire.

PREMIÈRE PARTIE

Etude expérimentale de la méningite cérébro-spinale chez les lapins.

ESSAIS PRÉLIMINAIRES.

En entreprenant nos recherches sur la méningite expérimentale, nous avons choisi comme animal d'essai le lapin. Nous avons essayé d'infecter cet animal en pratiquant l'injection d'une émulsion de méningocoques dans la cavité sous-arachnoïdienne par ponction occipitale. Nous avons commencé nos expériences avec des cultures typiques de méningocoques fraîchement isolées d'enfants atteints de méningite cérébro-spinale. Nous avons reproduit, dès les premiers essais, la méningite expérimentale typique et mortelle. L'examen microscopique et bactériologique du liquide céphalo-rachidien ainsi que l'examen histo-pathologique du cerveau et de la moelle épinière ne laissaient aucun doute à cet égard.

Au début de nos recherches, nous avons employé pour l'infection expérimentale des doses assez grandes de cultures de méningocoques. Ainsi, nous avons injecté dans la cavité sous-arachnoïdienne de lapins jusqu'à 4 à 6 milliards de corps microbiens. Mais les essais ultérieurs nous ont montré qu'on peut reproduire la méningite expérimentale avec des doses moindres, contenant de 125 millions jusqu'à 1 à 2 milliards de corps microbiens.

Les résultats de nos premiers essais ont été si démonstratifs, que le problème de la méningite cérébro-spinale expérimentale nous semblait résolu. Mais bientôt les doses de méningocoques employées ont cessé de tuer les lapins par méningite.

Ces échecs inattendus nous ont tout d'abord quelque peu désorientés. En recherchant les causes les plus probables de ces échecs soudains, nous avons cru les trouver dans les changements du pouvoir pathogène de nos cultures. Il nous est apparu que nos souches méningococciques cultivées sur gélose-ascite et sur sérum coagulé avaient perdu leur virulence à cause des milieux nutritifs employés. Il nous a donc semblé nécessaire de chercher un milieu plus convenable pour la conservation de la virulence de cultures. D'après les belles recherches de Murray, résumées dans sa monographie récemment publiée (1929), c'est le milieu de Dorset qui convient particulièrement bien pour la conservation de la virulence des méningocoques pour la souris. Nous avons essayé ce milieu. Les souches de méningocoques affaiblies dans leur pouvoir pathogène ont été régénérées par réinoculations successives aux lapins par voie intrarachidienne. Ensuite, elles ont été conservées sur le milieu de Dorset d'après la technique de Murray. Les cultures, traitées de cette manière, ont montré une virulence assez forte et stable pour le lapin. Cela nous a permis non seulement de reprendre les recherches interrompues, mais aussi de les étendre.

RECHERCHES SYSTÉMATIQUES.

a) CARACTÈRES DES CULTURES. DOSES EMPLOYÉES. — Nous avons utilisé avec succès huit souches de méningocoques fraîchement isolées du liquide céphalo-rachidien d'enfants atteints de méningite cérébro-spinale. Toutes étaient typiques au point de vue morphologique, tinctorial, biochimique et sérologique; elles appartiennent au type A et au type B d'après la classification française. Pour nos recherches systématiques nous avons choisi deux cultures de notre collection: la souche n° 180 du type A et la souche n° 126 du type B. La souche A-180 a été isolée du liquide céphalo-rachidien d'un lapin mort de méningite expérimentale après infection intrarachidienne avec la même souche fraîchement isolée d'un enfant malade (souche de premier passage). La culture B-126 a été isolée dans les mêmes conditions après dix passages chez le lapin (souche de deuxième passage). Dans la suite les cultures

A-180 et B-126 ont été conservées par repiquages sur le milieu de Dorset.

Nous avons employé des cultures sur milieu de Dorset âgées de dix-huit à vingt-quatre heures et émulsionnées dans la solution physiologique. La concentration des méningocoques dans l'émulsion a été constamment déterminée par la méthode optique en la comparant avec une émulsion standardisée. Les doses employées ont été différentes et comprises entre 125 millions et 2 à 4 milliards de germes. Pour les cultures étalons dont nous avons parlé plus haut, la dose sûrement mortelle a été déterminée.

Celle-ci, pour la culture A-180 est égale à 1 milliard et pour la culture B-126 à 2 milliards de germes. L'action de ces doses est examinée en détail plus loin. Remarquons que, d'après nos examens, 1 milliard de notre émulsion méningococcique correspond à 2 milligrammes environ de corps microbiens raclés du milieu de Dorset et pesés à l'état humide. Ainsi les doses employées de 125 millions à 2 à 4 milliards correspondent à 1/8 de milligramme et à 4 à 8 milligrammes. En particulier, la dose mortelle pour la souche A-180 a été égale à 2 milligrammes et celle pour la souche B-126 à 4 milligrammes.

b) REMARQUES SUR LES ANIMAUX D'ESSAI ET LA MÉTHODE D'INFECTION EXPÉRIMENTALE. — Pour nos recherches, nous avons employé de jeunes lapins à 1.300 à 1.500 grammes environ. Les lapins adultes peuvent être aussi infectés, mais les résultats ne sont pas réguliers à cause des différences individuelles.

Nous l'avons noté au début de cet exposé, nous avons eu recours à l'infection sous-arachnoïdienne par ponction sous-occipitale. Cette méthode utilisée dans le laboratoire de notre collègue A. Speranski est très simple et très précise (1). L'animal supporte très bien cette petite opération. La technique même est très facile et ne demande qu'un peu d'habitude.

D'après Speranski la ponction sous-occipitale s'effectue chez le lapin fixé sur la table après narcose par l'éther. Mais d'après la technique utilisée à l'Institut Pasteur de Paris la narcose et la fixation de l'animal ne sont pas nécessaires. Cette

(1) Cette méthode est décrite par A. Panomareff. *Der suboccipitale Durchstich* U.S.W. *Zeitschr. f. experim. Medizin*, 64, 1929.

dernière technique est donc plus commode. Cependant nous avons préféré suivre la technique de Speranski qui est plus sûre quoique plus lente.

Avant l'infection nous évacuons par ponction sous-occipitale de 0 c. c. 5 environ de liquide céphalo-rachidien qui est ensuite remplacé par l'injection de 0 c. c. 5 de l'émulsion contenant la quantité nécessaire de méningocoques.

Dans des essais spéciaux nous avons aussi pratiqué l'infection des lapins par voie intraorbitaire d'après Dawson-Oschida (1). Mais les résultats de tels essais ne sont pas constants (par exemple, 3 cas positifs sur 8 essais). Les échecs observés tiennent sans doute à des défauts de technique. C'est pourquoi nous avons abandonné cette méthode.

Nous avons essayé enfin l'infection par voie intraveineuse. Mais les résultats ont été toujours négatifs malgré l'injection de doses énormes de cultures, sûrement pathogènes, lorsqu'elles sont administrées par voie sous-arachnoïdienne.

c) **TABEAU CLINIQUE DE L'INFECTION MÉNINGOCOCCIQUE CHEZ LE LAPIN.** — Nous avons réussi à reproduire la méningite cérébro-spinale mortelle chez 80 lapins infectés par voie sous-arachnoïdienne y compris 3 cas positifs d'infection par voie intraorbitaire. En ce qui concerne les souches étalons A-180 et B-126 l'infection a été positive dans 90 p. 100 des cas, pour les doses de 125 millions ($1/8$ de milligramme) jusqu'à 1 à 2 milliards (2 à 4 milligrammes) de germes, elle a été positive dans 100 p. 100 des cas pour les doses sûrement mortelles de 1 et 2 milliards de germes.

Le tableau clinique de l'infection expérimentale est le suivant :

En règle générale, les symptômes morbides apparaissent dans les heures qui suivent l'injection de méningocoques dans la cavité sous-arachnoïdienne. On observe une polypnée très accusée et la température monte jusqu'à 40° à 41°C. Nous verrons plus loin que l'on peut interpréter ces symptômes initiaux comme le résultat de l'intoxication par les endotoxines libérées, car on assiste au même tableau clinique, après l'injec-

(1) *Centralblatt f. Bakter.*, 29, 1901.

tion sous-arachnoïdienne de cultures de méningocoques stérilisées par la chaleur.

Par la suite, l'infection se développe progressivement. Selon la dose le virus et l'individualité même de l'animal, le tableau clinique peut être différent. En général on peut discerner trois formes principales et caractéristiques de l'infection.

a) *Forme typique avec symptômes méningés bien caractérisés.* — On observe dans ces cas la raideur classique de la nuque et une sensibilité périphérique très accusée et, semble-t-il, douloureuse (la réaction convulsive est très vive à la palpation de la région de la colonne vertébrale en particulier).

On observe aussi des phénomènes douloureux (gémissements et cris) ainsi que des accès de convulsions après une excitation artificielle ; parfois, il existe un nystagmus typique et une hyperémie intense des yeux, chez les albinos. En même temps apparaît une paralysie progressive des extrémités postérieures et parfois des extrémités antérieures. L'hypothermie et la dyspnée sont aussi constantes. La mort survient en deux à quatre jours.

b) *Forme paralytique suraiguë.* — On note pour cette forme les symptômes suivants : dyspnée accusée ; prostration générale ; paralysie rapide et progressive des extrémités ; hypothermie précoce. Quant aux symptômes méningés ils sont masqués par la prostration générale de l'animal qui meurt au bout de un à deux jours.

c) *Forme paralytique subaiguë.* — L'évolution de l'infection, dans ces cas, est plus lente. La paralysie des extrémités postérieures commence vers le deuxième ou le troisième jour ; elles s'accroissent progressivement et représentent les symptômes caractéristiques de cette forme. Plus tard, on observe la prostration progressive de l'animal avec hypothermie. Parfois on constate aussi de la raideur de la nuque. L'animal meurt au bout de cinq à sept jours.

Dans un but de contrôle nous avons injecté dans la cavité sous-arachnoïdienne de quelques lapins des doses doubles (4 milliards) de méningocoques tués par le chauffage (60°C). Comme nous l'avons déjà noté, les animaux répondent à ces injections par une réaction bien caractérisée. Comme après l'injection de germes vivants, les lapins manifestent après quel-

ques heures une polypnée marquée ou même très forte et une élévation de la température (jusqu'à 40°C et plus). Cependant tous ces symptômes disparaissent peu à peu et l'animal se rétablit complètement au bout de deux à trois jours. Parfois on observe des phénomènes intenses d'irritation chez les animaux ainsi intoxiqués par l'endotoxine méningococcique. Dans un cas ces phénomènes ont duré deux jours, puis le lapin s'est rétabli.

d) *Durée de l'infection méningococcique suivant la dose employée.* — En injectant à 62 lapins des doses différentes de 125 millions à 2 milliards de cultures A-180 et B-126 nous avons observé les durées suivantes de l'infection expérimentale.

Durée.	1 jour.	2 jours.	3 jours.	4 jours.	6-7 jours.
Nombre.	35	11	6	5	5
Pourcentage . .	56	17,7	9,7	8,7	8,4

Les mêmes cultures injectées à 28 lapins aux doses sûrement mortelles (1 milliard pour A-180 et 2 milliards pour B-126) ont provoqué une maladie plus courte.

Durée	1 jour.	2 jours.	3 jours.	4 jours.
Nombre	21	4	3	0
Pourcentage	75	14,3	10,7	0

Enfin les mêmes cultures injectées à doses moindres à 12 lapins (de 125 à 500 millions pour A-180 et de 125 millions à 1 milliard pour B-136) ont provoqué des infections dont la durée a été la suivante :

Durée	1 jour.	2 jours.	3 jours.	4 jours.	6 jours.
Nombre	4	2	2	2	2
Pourcentage . . .	33,6	16,6	16,6	16,6	16,6

Nous voyons donc, qu'en général, l'infection méningococcique expérimentale peut être considérée comme une maladie aiguë mortelle. En même temps nous observons que la durée de l'infection est inversement proportionnelle à la quantité des germes inoculés. Enfin nous constatons que la dose mortelle des cultures A-180 (1 milliard) et B-126 (2 milliards) a tué l'animal d'essai en un à deux (89,3 p. 100) ou trois (10,7 p. 100)

jours. Autrement dit les doses choisies ont été très efficaces et assez constantes dans leur pouvoir pathogène.

Il est intéressant de comparer ces doses sûrement mortelles déterminées pour des lapins de 1.500 grammes (infection intrarachidienne) avec celles que Murray (1929) a notées comme DLM pour les souris de 20 grammes (infection intrapéritonéale).

D'après Murray la DLM pour les souches méningococciques les plus virulentes est égale à 1 milligramme, très rarement à 0 milligr. 5 et exceptionnellement à 0 milligr. 25. Pour les cultures virulentes, la DLM est égale à 2 à 4 milligrammes le plus souvent.

Ainsi nos doses mortelles de 1 à 2 milliards ou à 2 à 4 milligrammes déterminées pour les lapins de 1.500 grammes ont été presque les mêmes que celles que signale Murray comme doses minima mortelles pour les souris de 20 grammes. Si l'on remarque que nos doses représentent en réalité deux fois la DLM, la sensibilité de la méthode intrarachidienne devient évidente. Il ressort aussi de ces comparaisons que la résistance exceptionnelle des lapins vis-à-vis de l'infection méningococcique acceptée par tous les auteurs est relative. Les méningocoques virulents montrent donc un pouvoir pathogène assez grand pour les lapins, lorsqu'ils sont injectés par voie intrarachidienne.

e) *Anatomie pathologique de la méningococcie expérimentale.* — L'aspect macroscopique du liquide peut varier. On observe des liquides très louches avec des flocons purulents, ou des liquides presque clairs. La quantité du liquide peut être presque normale, mais elle est souvent augmentée. L'aspect microscopique peut être aussi différent. Tantôt les préparations sont très pauvres en leucocytes et contiennent une quantité énorme de méningocoques, c'est ce qui a lieu dans les cas suraigus. Tantôt les leucocytes peuvent être très nombreux et au contraire les méningocoques très rares; par exemple, dans les cas de méningite subaiguë. Si le lapin infecté se rétablit, les leucocytes polynucléaires disparaissent progressivement et on observe alors l'apparition de leucocytes mononucléaires.

La surface du cerveau des lapins morts de méningite est fortement hyperémiée. Quelquefois on trouve des hémorragies

punctiformes très nombreuses dans la substance de la moelle épinière et aussi dans certaines parties du cerveau. Dans un cas nous avons constaté de l'hydrocéphalie.

L'examen microscopique du cerveau et de la moelle épinière montre que l'exsudat purulent couvre toute leur surface extérieure sous forme d'un voile mince et fragile.

Du côté des organes internes, on note assez souvent la présence de foyers pneumoniques et la paralysie de la vessie toujours très distendue par une quantité énorme de l'urine.

f) *Bactériologie de la méningococcie expérimentale.* — Lesensemencements du liquide céphalo-rachidien de lapins morts de méningite expérimentale donnent constamment des cultures positives de méningocoques. Ainsi, en examinant 50 cas nous avons obtenu une culture riche en méningocoques 47 fois, c'est-à-dire dans 94 p. 100. Les cultures étaient encore positives jusqu'au quatrième ou cinquième jour après l'infection.

Lesensemencements du sang et des organes internes (rate, foie) étaient régulièrement positifs. Ainsi, parmi 33 cas de méningite mortelle, nous avons obtenu l'hémoculture positive 27 fois, c'est-à-dire dans 81,7 p. 100 des cas. L'hémoculture était encore positive jusqu'au troisième ou quatrième jour après l'infection.

La présence de la méningococcie généralisée dans les cas de méningite expérimentale chez les lapins est un phénomène très intéressant. Comme on le sait, l'infection des lapins par voie intraveineuse même avec des doses énormes de méningocoques virulents reste sans résultats. Nous constatons également que l'infection intrarachidienne reproduit la méningite, régulièrement accompagnée de septicémie méningococcique secondaire.

Nous ferons enfin remarquer que parfois nous avons observé chez nos lapins une infection secondaire par d'autres germes.

Cette infection associée se rencontrait le plus souvent dans les cas de méningite expérimentale lente. Il s'agissait vraisemblablement dans ces cas de « germes de sortie ». Nous avons aussi observé la présence d'un petit cocco-bacille très semblable au bacille de Pfeiffer. On peut supposer que ce microbe était d'origine naso-pharyngienne, car nous l'avons rencontré chez les lapins atteints de rhinite purulente. Dans un cas, nous avons trouvé un coccobacille particulièrement intéressant au point

de vue de la pathogénie générale de la méningite. Il s'agissait d'un lapin infecté par voie intrarachidienne avec une dose non mortelle de méningocoques. L'animal se rétablit parfaitement après l'infection méningococcique, mais quelques jours plus tard il succomba à une méningite typique. L'autopsie a montré une méningite purulente très intense. L'ensemencement du liquide rachidien a donné une culture pure et abondante d'un coccobacille. Dans ce cas le coccobacille était un germe de sortie qui a envahi la cavité intrarachidienne grâce à l'infection passagère par le méningocoque.

Ainsi les données expérimentales, concernant l'infection méningée mixte ou secondaire, présentent une analogie parfaite avec les cas de méningite cérébro-spinale humaine compliquée par des infections secondaires (Bac. de Fraenkel, Bac. de Pfeiffer, etc.).

DEUXIÈME PARTIE

Étude de l'immunité antiméningococcique basée sur la méningite expérimentale.

Ayant à notre disposition deux souches de méningocoques A-180 et B-126, dont la virulence constante nous a permis de déterminer la dose sûrement mortelle pour le lapin, nous avons entrepris quelques recherches sur l'immunité antiméningococcique.

Grâce à la possibilité de reproduire la méningite expérimentale mortelle, nous avons essayé d'analyser, au moyen de cette méthode, les phénomènes de l'immunité antiméningococcique chez les lapins vaccinés, d'autre part nous avons étudié l'action des sérums spécifiques vis-à-vis du méningocoque.

Voici sommairement exposés les résultats obtenus au cours de ces recherches.

VACCINATION ANTIMÉNINGOCOCCIQUE DES LAPINS.

a) LES LAPINS VACCINÉS RESTENT SENSIBLES A L'INFECTION MÉNINGOCOCCIQUE SOUS-ARACHNOÏDIENNE. — Nous avons vacciné un lot de

lapins en leur injectant sous la peau ou par voie intraveineuse des quantités variables de méningocoques soit vivants, soit chauffés, soit formolés. Les doses du vaccin employées oscillaient entre 0,5 à 1 et 10 à 15 milliards de corps microbiens; et le nombre des injections était tantôt de 2, tantôt de 3, tantôt de 5. La quantité totale de corps microbiens inoculés était comprise entre 3 et 17 ou bien entre 23 et 39 milliards. Les injections de vaccin étaient faites à des intervalles de sept à dix jours. L'épreuve de l'immunité a été faite quatorze à trente jours après la vaccination, avec une dose sûrement mortelle du virus vivant, toujours par voie sous-arachnoïdienne (ponction sous-occipitale). Tous les lapins ainsi traités ont succombé à l'infection méningococcique typique.

Ainsi, les lapins vaccinés n'ont montré aucune immunité contre l'infection méningococcique sous-arachnoïdienne, même dans le cas d'une vaccination très intense. Quelle est la cause de ces échecs? On peut envisager deux explications. Ou bien les animaux vaccinés n'acquièrent pas l'immunité ou bien leur cavité méningée et leur système nerveux restent sensibles aux méningocoques malgré l'apparition, par ailleurs, de l'immunité. On pourrait supposer, en particulier, que les anticorps spécifiques, accumulés dans le sang, ne peuvent pénétrer dans la cavité sous-arachnoïdienne.

Nous avons étudié les propriétés du sérum de lapins vaccinés.

b) PROPRIÉTÉS DU SÉRUM DES LAPINS VACCINÉS. — Pour l'étude de ces propriétés, nous avons injecté dans la cavité sous-arachnoïdienne de lapins neufs le mélange de doses sûrement mortelles de méningocoques et de quantités décroissantes du sérum à essayer. Voici la technique que nous avons employée.

On émulsionne dans la solution physiologique une culture de méningocoques sur milieu de Dorset, âgée de vingt à vingt-quatre heures. On dilue ensuite l'émulsion, de telle façon que sous le volume de 0,5 cent. cube elle contienne deux doses sûrement mortelles pour un lapin de 1.400-1.500 grammes. On ajoute à cette dilution du sérum d'essai non dilué, dilué au 1/2 et dilué au 1/4 sous le volume de 0 à 5. On prépare ainsi une série de mélanges contenant dans 1 cent. cube deux doses

mortelles de méningocoques + des doses décroissantes du sérum d'essai. On laisse les mélanges à l'étuve pendant quinze à trente minutes. Ensuite, on injecte de 0 c. c. 5 de chaque mélange dans la cavité sous-arachnoïdienne de lapins neufs du poids de 1.400-1.500 grammes. Ces lapins reçoivent donc sous le volume de 0 c. c. 5 un mélange de dose mortelle de méningocoques et de doses décroissantes du sérum d'épreuve (0 c. c. 25, 0 c. c. 125, 0 c. c. 06). En même temps, on injecte à des lapins témoins un mélange de sérum normal (0 c. c. 25) et d'une dose mortelle de méningocoques, à d'autres on inocule seulement la dose mortelle de méningocoques.

La méthode décrite ci-dessus est basée sur l'hypothèse que le sérum spécifique actif, à doses suffisantes, doit préserver le lapin contre la méningite mortelle. C'est ce que nous avons pu vérifier complètement par nos expériences.

Les sérums de nos lapins vaccinés aux doses de 0 à 12 à 0 c. c. 06 ont préservé des lapins neufs vis-à-vis de la méningococcie mortelle. Ainsi le sérum des lapins vaccinés s'est montré très actif alors que ces animaux eux-mêmes ont succombé à la méningite, après infection intrarachidienne. Ces observations justifient l'opinion émise : les lapins vaccinés restent sensibles à l'infection méningococcique intrarachidienne malgré le pouvoir préventif très solide de leur sang ; les anticorps spécifiques ne pénétrant pas dans la cavité sous-arachnoïdienne, le tissu nerveux reste très sensible à l'action des méningocoques.

Nous avons pu démontrer directement la justesse de cette conception. Dans ce but, nous avons effectué les expériences suivantes :

Nous avons examiné si le sérum du lapin vacciné ne peut pas préserver cet animal lui-même contre la méningite mortelle, lorsqu'il est injecté dans la cavité sous-arachnoïdienne en mélange avec la dose mortelle de méningocoques. Les essais entrepris ont permis de vérifier ce fait : le lapin vacciné survit, si on lui injecte dans la cavité sous-arachnoïdienne une dose suffisante de son propre sérum en mélange avec la dose sûrement mortelle de méningocoques.

Nous reproduisons ici quelques protocoles d'expériences qui démontrent l'efficacité du sérum des lapins vaccinés. Ces pro-

toques montrent en même temps la sensibilité des lapins vaccinés à l'infection méningococcique réalisée par voie intrarachidienne, sensibilité qui peut être cependant prévenue si l'on ajoute à la dose infectante de méningocoques le propre sérum de ces lapins.

TABLEAU I. — Série A.

	NUMÉRO des lapins	POIDS	SÉRUM anti B du lapin 96	DOSE mortelle de la culture B 126 en milliards	RÉSULTATS
Lapins vaccinés .	96	1.400	—	2	+
Lapins neufs . . }	139	1.480	0,25	2	0
	140	1.550	0,12	2	0
	179	1.600	—	2	+

Le signe + indique la mort, le signe 0 la survie.

TABLEAU I. — Série B.

	NUMÉRO des lapins	POIDS	SÉRUM anti-B du lapin 128	DOSE mortelle de la culture B 126 en milliards	RÉSULTATS
Lapins vaccinés .	128	1.600	0,25	2	0
Lapins neufs . . }	178	1.300	0,25	2	0
	147	1.350	0,12	2	0
	148	1.400	0,06	2	+

Le signe + indique la mort, le signe 0 la survie.

c) EPREUVE DES SÉRUMS ANTIMÉNINGOCOCCQUES DE CHEVAL. — Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, la méthode que nous avons établie permet non seulement de se rendre compte du pouvoir préventif du sérum antiméningococcique des lapins vaccinés, mais elle permet aussi de déterminer le titre relatif de ces sérums.

Nous avons essayé d'appliquer cette méthode au titrage de sérums antiméningococciques de chevaux hyperimmunisés. Nous avons choisi pour cela un sérum anti-A n° 1 et un sérum anti-B n° 2. Les deux sérums ont été obtenus chez des chevaux

immunisés par voie intraveineuse avec les cultures correspondantes de méningocoques fraîchement isolées d'enfants atteints de méningite cérébro-spinale. Les essais exécutés d'après le schéma décrit plus haut nous ont montré que la méthode donne les résultats très favorables et très exacts au point de vue de la spécificité. Les essais ont montré que le sérum anti-A préserve les lapins de la méningite mortelle à la dose de 0 c. c. 25 et le sérum anti-B est efficace à la dose à 0 c. c. 12; les doses moindres (0 c. c. 12 pour anti-A et 0 c. c. 06 pour anti-B) ne se sont pas montrées efficaces. D'un autre côté, les essais complémentaires ont montré que le sérum anti-A ne préserve pas le lapin contre l'infection sous-arachnoïdienne avec la culture B, et le sérum anti-B est inefficace vis-à-vis de la culture A dans les mêmes conditions. Voici un protocole résumant les essais comparatifs d'action homologue et hétérologue des sérums examinés.

TABLEAU II.

NUMÉRO des lapins	POIDS	TYPE du sérum	DOSE d'essai	TYPE de la culture	DOSE mortelle en milliards	RÉSULTATS
77 . . .	1.400	A	0,25	A	1,0	0
54 . . .	1.700	A	0,25	A	1,0	0
51 . . .	1.400	A	0,25	B	2,0	+
87 . . .	1.520	A	0,25	B	2,0	+
143 . . .	1.420	B	0,25	B	2,0	0
157 . . .	1.470	B	0,25	B	2,0	0
95 . . .	1.350	B	0,25	B	2,0	0
93 . . .	1.700	B	0,25	A	1,0	+

Ainsi, la méthode d'épreuve de sérums antiméningococciques que nous venons d'examiner et qui est basée sur la méningite expérimentale des lapins montre d'une façon indiscutable l'importance du type du sérum et la spécificité stricte de son action vis-à-vis de méningocoques correspondants. Les résultats obtenus, par ailleurs, ont prouvé la haute valeur de la méthode élaborée.

Nous avons examiné, d'après notre méthode, trois autres sérums (N^{os} 3, 4 et 5) antiméningococciques provenant de chevaux hyperimmunisés avec les cultures A conservées depuis quelques années sur sérum coagulé dans notre Institut. Tous

ces sérums, examinés aux doses de 0 c. c. 25 et 0 c. c. 12, se montraient incapables de préserver les lapins contre l'infection sous-arachnoïdienne avec la culture A-180. Bien plus, les grosses doses de ces sérums (0 c. c. 25) ont accéléré la mort des animaux d'essai (action lysante?). Quelle est la cause de l'inefficacité frappante de ces sérums? Il est probable qu'elle est liée à la qualité amoindrie des cultures au moyen desquelles les chevaux ont été immunisés. Voici sur quoi est basée cette hypothèse.

En comparant ces derniers sérums aux sérums des lapins vaccinés, nous constatons que ces derniers se montrent les plus efficaces (en effet ils préservent le lapin aux doses de 0 c. c. 06, 0 c. c. 12).

Les lapins ont été immunisés avec les cultures très virulentes, conservées soigneusement sur milieu de Dorset.

Les sérums des chevaux n° 1 et n° 2, nous l'avons vu, se sont montrés un peu plus faibles que ceux des lapins, mais ils étaient cependant efficaces. Le titre agglutinant de ces sérums était égal à 1/1.000 environ et le titre pour la fixation de l'alexine oscillait entre 0,001 et 0 c. c. 003. Les chevaux ont été immunisés par voie intraveineuse avec les cultures vivantes, fraîchement isolées, mais conservées sur sérum coagulé.

Les sérums anti-A n°s 3, 4 et 5 dépourvus du pouvoir préventif provenaient de chevaux immunisés d'après la même méthode, mais avec de vieilles cultures du laboratoire conservées sur sérums coagulés. D'après les réactions *in vitro* (agglutination et fixation de l'alexine) ces sérums ne se distinguaient pas des sérums n° 1 et n° 2.

Nous constatons ainsi un parallélisme marqué entre le pouvoir préventif des sérums obtenus et la qualité des cultures employées pour leur production. Il est difficile de penser que cette liaison est accidentelle. Il est plus probable, au contraire, que l'état de la culture employée pour l'immunisation des animaux représente la cause déterminante des qualités du sérum obtenu. Une culture virulente et bien conservée doit avoir un pouvoir antigène meilleur.

Nous constatons également que le pouvoir préventif du sérum antiméningococcique et ses propriétés agglutinantes et fixatrices

in vitro n'ont pas de rapport bien étroit. Ces faits mettent en doute l'importance des méthodes *in vitro* employées pour l'appréciation des sérums antiméningococciques.

Conclusions générales.

Nous appuyant sur les faits présentés dans ce mémoire, nous pouvons affirmer que l'on peut reproduire régulièrement la méningite cérébro-spinale expérimentale chez le lapin en l'infectant par voie méningée à l'aide des cultures virulentes de méningocoques des types A et B injectées par ponction sous-occipitale. Nous avons montré qu'il est possible de déterminer, pour les cultures virulentes, la dose qui tue sûrement l'animal d'épreuve par méningite. Ces faits principaux ont une double valeur. Ils nous permettent d'étudier dès maintenant la méningite cérébro-spinale dans des conditions expérimentales précises. Il n'est pas nécessaire d'insister sur l'importance d'une telle possibilité pour les recherches sur la méningococcie. Ils nous permettent aussi d'entreprendre l'étude immunologique de l'infection méningococcique. Grâce à une méthode basée sur ces faits expérimentaux, nous avons actuellement la perspective très séduisante de pouvoir apprécier la valeur des sérums antiméningococciques. Nos essais sur ce point ont déjà abouti à des résultats très intéressants. Cependant, il serait encore prématuré d'affirmer que ce dernier problème est résolu définitivement. Mais la méthode ne deviendra pratique qu'à condition d'établir une technique sûre de conservation de la virulence des cultures de méningocoques pour les lapins. Dans ce but, nous avons utilisé avec des résultats tout à fait satisfaisants les cultures sur le milieu de Dorset. En pratiquant les repiquages sur ce milieu tous les sept-dix jours environ avec des réinoculations sous-arachnoïdiennes périodiques aux lapins, nous avons pu ainsi conserver au laboratoire, pendant cinq mois, la virulence constante d'une de nos cultures de méningocoques (B-126). Mais la durée de nos observations est encore trop courte et le nombre des recherches trop limité. On doit auparavant se livrer à l'étude détaillée de la virulence de méningocoques ainsi qu'à celle de

la dissociation de ces germes. Cette double étude fait l'objet de nos essais actuels.

D'après nos observations, chaque culture de méningocoques (au moins du type A et B) fraîchement isolée du liquide céphalo-rachidien des malades et non dégénérée doit, nous semble-t-il, être pathogène pour les lapins jeunes par infection sous-arachnoïdienne. En outre, d'après Murray, l'ensemencement direct du liquide céphalo-rachidien sur milieu de Dorset permet de garder constante la virulence des cultures obtenues. Mais nous ne savons pas si cette méthode vaut pour toutes les souches.

Il apparaît, d'après nos observations, que les réinoculations successives en série de lapin à lapin stabilisent la virulence des cultures. Parfois, grâce à ces réinoculations en séries, on peut régénérer le pouvoir pathogène de cette souche qui n'est pas trop dégradée par telles réinoculations successives avec les doses massives.

Il est indispensable d'expérimenter sur les lapins jeunes (1.300 à 1.500 grammes environ) parce que les animaux adultes peuvent donner des résultats moins réguliers, grâce à l'influence de la résistance individuelle plus marquée chez eux. Les lapins albinos semblent plus particulièrement sensibles à l'infection méningococcique expérimentale.

En résumé, nous croyons que nos recherches ouvrent des perspectives très favorables à l'étude expérimentale du problème de la méningite cérébro-spinale. Nous espérons aussi que les recherches déjà entreprises sur la virulence des méningocoques et sa conservation au laboratoire fourniront une base suffisante pour l'application pratique des résultats obtenus.

SUR LE CONTROLE DES CORDES A CATGUTS

par A. GORIS et A. LIOT.

Dans un travail antérieur, paru dans ces *Annales* (1), nous avons conclu que la préparation d'un catgut solide et stérile dépendait beaucoup plus de *la fabrication de la corde* que des *méthodes de stérilisation*.

Nous disions encore, qu'à défaut d'une fabrication spécialisée par le pharmacien, les boyaudiers devaient installer un atelier particulier pour le traitement des boyaux servant à la préparation des cordes à catgut.

Les cordes destinées aux instruments de musique, comme aux raquettes de tennis, exigent des traitements tout différents de ceux exigés par les cordes chirurgicales. Les premières demandent à avoir un aspect et des qualités physiques que ne réclame pas la corde à catgut, qui a seulement besoin d'être solide et facile à stériliser. Elle devrait être préparée par des méthodes très différentes de celles appliquées jusqu'alors.

Nous insistions sur l'importance d'un certain nombre de notions élémentaires de propreté et de technique bactériologique, et nous propositions diverses précautions à prendre pour obtenir une corde parfaite, cette corde bien préparée étant alors d'une stérilisation facile.

Nous demandions pour éviter l'infection en profondeur des cordes une récolte de boyaux faite proprement aux abattoirs, leur transfert rapide aux usines, la suppression de la fermentation, autrefois considérée comme indispensable, le traitement des boyaux dans la même journée et leur conservation en chambre froide en attendant leur traitement.

Nous appelions l'attention des industriels sur la nécessité d'opérer le raclage sur les boyaux préalablement fendus, de faire pratiquer par un personnel spécialisé le tordage des

(1) A. GORIS, Préparation du catgut. Ces *Annales*, 30, 1916, p. 5. — Préparation de la corde à catgut. Ces *Annales*, 30, 1916, p. 707.

lanières, blanchies et stérilisées, dans un bain neutre d'eau oxygénée à 50 p. 100 et dans un local facile à désinfecter, avec un matériel imputrescible.

C'est, en effet, au cours de la transformation des lanières en cordes que ces dernières sont susceptibles d'être *réinfectées en surface* (*infection secondaire*); aussi, pour pallier à cet inconvénient, nous recommandions le *soufrage sur cadre* avec des vapeurs de SO_2 et non le *soufrage en masse* des cordes par une solution d'acide sulfureux, et enfin la suppression de l'huilage des cordes.

Ce travail d'atelier demande à être contrôlé ensuite par l'analyse continuelle des cordes préparées dans les conditions que nous venons d'indiquer. Ce contrôle permet de se rendre compte des fautes qui ont pu être commises au cours du traitement et de perfectionner peu à peu cette technique industrielle.

Des tentatives de fabrication des catguts ont été faites dans des laboratoires privés, nous citerons en particulier celles de notre ami Fandre à Nancy, continuées par notre ancien élève Jouve, celles du London-Hospital dont les photographies ont paru dans le numéro du 15 décembre 1930 du *Siècle Médical*, enfin, celles relatées dans le *Giornale di pharmaceutica di chimica* (1), spéciales à la fabrication des catguts.

Ce sont là des initiatives intéressantes, mais nous croyons qu'au point de vue économique, la solution ne peut être réalisée que par une grande usine groupant tout un traitement industriel du boyau, dans des ateliers bien distincts et construits spécialement pour le traitement des différentes cordes. Les boyaux arrivant à l'usine seraient distribués aux divers ateliers, suivant la qualité ou l'état de la marchandise; tel produit impropre à la fabrication des catguts serait versé à l'atelier de préparation des cordes pour la lutherie et il en serait de même des boyaux n'ayant pu être traités dans la journée même de leur réception.

Convaincu du bien-fondé de mes observations, M. Babolat, de Lyon, a bien voulu établir une fabrication basée sur ces principes et il chargea son neveu, M. Maillot, de surveiller les

(1) E. B., La tecnica odierna della preparazione del Catgut. *Giornale di farmaceutica di chimica*, 78, 1929, p. 131-141.

essais industriels tout en se tenant en rapport constant avec le laboratoire où il fit préalablement un stage de plusieurs semaines.

C'est le résultat de cette collaboration entre le laboratoire et l'usine que nous voudrions exposer.

A. — TECHNIQUE DE CONTRÔLE EMPLOYÉE A LA PHARMACIE CENTRALE DES HÔPITAUX.

I. ESSAI DE RÉSISTANCE. — Chaque livraison des cordes correspond au travail d'une semaine à l'usine. Elles sont livrées par rouleaux de 50 cordes, classées suivant la grosseur.

A leur arrivée, les cordes sont examinées attentivement au point de vue de leur aspect; on s'assure particulièrement que les différentes lanières constituant la corde sont bien accolées les unes aux autres. Elles sont ensuite soumises à un essai de résistance au dynamomètre de Stultz, en prélevant en moyenne une ou deux cordes par rouleau.

Ne sont acceptées que les cordes répondant aux essais de traction suivants :

NUMÉRO DES CATGUTS [Classement décimal] (1)	DIAMÈTRE en 1/10 de millimètre (compris entre)	RÉSISTANCE à la traction (en kilogrammes)
2.	0,0002 et 0,0003	1,600
3.	0,0003 et 0,0004	2,500
4.	0,0004 et 0,0005	5
5.	0,0005 et 0,0006	7
6.	0,0006 et 0,0007	12
7.	0,0007 et 0,0008	15
8.	0,0008 et 0,0009	16
9.	0,0009 et 0,0010	17
10.	0,0010 et 0,0011	20

Depuis quelques années, les charges de rupture sont toujours supérieures à ces chiffres, exception faite, toutefois, pour

(1) On nous a très souvent reproché d'avoir adopté ce classement décimal et d'avoir rejeté l'ancienne numération arbitraire qui, d'ailleurs, varie avec chaque pays. Nous avons sciemment modifié les habitudes commerciales en nous rappelant à cette époque de standardisation le grand effort fait dans cette voie par la France, il y a un peu plus d'un siècle, lorsqu'elle a établi le système métrique, et il me paraîtrait paradoxal de voir notre ami, le grand chirurgien X..., qui regrette les n^{os} 000, 00, 0, se présenter dans un restaurant pour demander un demi-setier de vin et 2 liards de pain.

les n^{os} 2 et 3 dont les résistances à la traction sont très variables, dans une même corde.

II. ESSAI DE STÉRILISATION. — On soumet ensuite les cordes à un essai de stérilisation. Pour cela, on coupe l'une des extrémités de chaque rouleau de cordes sur une longueur de 5 à 6 centimètres : on obtient ainsi des faisceaux de 50 fragments (soit 2 m. 50 à 3 mètres de corde) qui sont attachés aux deux extrémités par un brin de fil. Rouleaux et faisceaux sont alors numérotés.

Chacun des faisceaux est introduit dans un tube à catgut avec de l'alcool à 90° et l'on pratique la stérilisation par tyndallisation à 60°. Toutefois, l'épreuve est rendue plus rigoureuse en ce sens que la tyndallisation n'est pratiquée que pendant deux jours, tandis que pour les catguts livrés aux hôpitaux elle est poursuivie cinq jours de suite, la température de 60° étant maintenue dans les deux cas huit heures par jour (1).

La tyndallisation terminée, on introduit chaque faisceau dans des tubes de 22 millimètres de diamètre contenant une assez forte proportion de bouillon afin de diluer l'alcool qui imprègne les fragments de corde (2).

Nous préférons cette méthode à celle qui consiste à effectuer le renouvellement du bouillon au moyen d'une pipette Pasteur, car les manipulations et, par suite, les dangers de contamination sont ainsi réduits au minimum.

Les tubes sont ensuite placés à l'étuve à 37° et y sont conservés dix à douze jours avant de se prononcer sur l'acceptation des cordes.

Certains auteurs prétendent qu'il serait préférable de faire

(1) La préparation du catgut comporte 5 chauffages, 2 sont faits dans l'alcool à 90° à la température à 60°, pour enlever les matières grasses et savons. Ces savons sont formés lors de l'action des substances alcalines sur les lanières plongées dans ces solutions. Lorsque ce traitement à l'alcool n'a pas été suffisamment prolongé, on obtient, lorsque les catguts sont terminés, un précipité de ces matières grasses et savons, sous forme de paillettes blanches.

Après ce traitement, les cordes sont enroulées sur bobines et soumises à 3 tyndallisations de huit heures par jour dans l'alcool à 90°, à la température de 60°-65° (méthode indiquée autrefois par Carrion).

(2) Cette petite quantité d'alcool ne gêne nullement le développement des microbes comme on peut s'en rendre compte par ensemencement des tubes avec une culture microbienne (*Staphylocoque*, *B. subtilis*).

porter l'essai sur 4 ou 5 cordes entières prélevées dans chaque rouleau.

Nous avons essayé les deux méthodes et c'est à la suite de nombreux essais que nous sommes arrivés à considérer la première comme étant de beaucoup la plus rigoureuse. Depuis quinze ans, nous avons pratiqué plus de 30.000 ensemencements, tant à la réception des cordes qu'à la livraison des catguts fabriqués, ainsi que pour les nombreux essais de stérilisation que nous avons tentés : notre opinion est donc basée sur de multiples observations, faites et renouvelées chaque année.

Nous devons exposer les faits sur lesquels est basée notre conviction.

A la Pharmacie Centrale, les livraisons de cordes sont faites chaque semaine et comprennent de 3.000 à 5 000 cordes, soit 60 à 100 rouleaux.

L'essai de culture porte sur toute la livraison (1), comportant des cordes de calibres différents, mais ayant toutes été fabriquées dans la même période.

Ces 100 tubes ensemencés contiennent donc 5.000 petits fragments de catguts de 5 centimètres de longueur, soit 250 mètres de cordes.

Les résultats obtenus se classent en deux catégories très nettes :

A. Dans quelques cas, un grand nombre de tubes donnent

(1) Ces manipulations se font dans une petite salle spécialement réservée à ces essais bactériologiques. Cette pièce n'est ouverte que le temps nécessaire aux opérations d'ensemencement et de vérification des tubes mis à l'étuve; elle est désinfectée aux vapeurs du formol tous les deux ou trois mois.

Après avoir donné le trait de lime, les tubes à catguts sont flambés, puis cassés avec précaution, on verse le contenu dans une boîte de Petri stérile. Avec des pinces flambées, on prélève le faisceau de cordes, et, après l'avoir laissé égoutter quelques instants, on le transporte dans un tube contenant le bouillon, de formule suivante :

Peptone bactériologique	20 gr.
Glucose	1 —
Chlorure de sodium	5 —
Eau	1.000 —

La présence du catgut dans ce bouillon constitue un excellent milieu Tarozzi, préconisé pour la culture des anaérobies, de sorte qu'il n'y a pas besoin de faire des ensemencements particuliers pour la recherche de ces microbes.

Ces opérations de contrôle sont toujours faites par l'un de nous.

des cultures. On peut alors affirmer que les précautions nécessaires n'ont pas été prises à l'atelier, et que les boyaux ou lanières, n'ayant pas été travaillés assez rapidement, ont subi un commencement de fermentation.

B. Dans la majorité des cas, il ne se développe aucune culture, ou bien l'on trouve 1, 2 quelquefois 3 tubes défectueux. Il arrive ainsi couramment d'ensemencer 15.000 à 20.000 morceaux de 5 centimètres, correspondant à autant de cordes sans obtenir de culture.

Si ce résultat se renouvelle chaque année pendant des mois, on peut être assuré que le travail à l'usine a été fait suivant la règle préalablement établie.

Il reste à expliquer pourquoi l'on trouve, de temps à autre, quelques tubes ayant cultivé et pourquoi la défectuosité constatée ne permet pas de jeter un doute sur tout l'ensemble de la livraison.

Cette objection s'est présentée très souvent à notre esprit et nous avons entrepris de nombreux essais pour y répondre, dont les deux suivants sont assez démonstratifs.

1° Dans des livraisons parfaites où l'on n'a constaté aucune culture, on prélève 50, 100, 200 cordes sur l'ensemble des rouleaux et on effectue leur stérilisation, comme pour un essai. Ces 50, 100, 200 cordes de 2 m. 50 ne donnent jamais de culture.

Cette vérification, renouvelée plusieurs fois par an, constitue une autre forme du contrôle que nous avons adoptée.

Chaque fois qu'elle a été faite dans les conditions indiquées, les résultats de l'ensemencement ont toujours été négatifs.

2° Dans des livraisons où l'on a constaté deux ou trois cultures sur un essai de 100 rouleaux, on prélève ces deux ou trois rouleaux défectueux et deux ou trois rouleaux de la même livraison, mais n'ayant pas donné de culture et qui serviront de témoin. Les cordes de ces rouleaux sont traitées et stérilisées séparément, puis mises en bouillon.

Les cordes témoins ne donnent aucune culture, et, parmi les 150 cordes provenant des rouleaux défectueux, on obtient un nombre variable, mais toujours très faible, de cultures 1, 2, 3 au maximum.

Il n'y a donc que 2, 3 mauvaises cordes par rouleau de 50, mais cela suffit pour le faire rejeter tout entier (1).

La mauvaise corde provient d'un boyau ayant subi une fermentation et qui a été employé par inadvertance.

B. — RÉSULTATS OBTENUS

DANS LA PRÉPARATION INDUSTRIELLE DES CORDES.

Nous avons systématiquement appliqué cette méthode d'essai à toutes les cordes qui nous ont été fournies. Nous donnons les résultats des six dernières années.

Nous établirons d'abord une distinction entre les livraisons qui ont été *rejetées en bloc* parce qu'elles avaient donné lieu à un pourcentage de culture trop élevé, dépassant par exemple 10 p. 100, et celles n'ayant pas cultivé ou n'en donnant qu'un nombre très restreint (1 p. 100 par exemple) et dans lesquelles le rouleau suspect a été éliminé (2).

LIVRAISONS REJETÉES EN BLOC. — En 1926, il nous a été fait 50 livraisons comprenant 2.521 rouleaux et comportant par conséquent autant d'ensemencements, il a été rejeté 11 livraisons comprenant 547 rouleaux dont 220 avaient cultivé.

En 1927, 40 livraisons, 2.569 rouleaux. Il a été rejeté 5 livraisons comprenant 299 rouleaux, dont 75 défectueux.

En 1928, 40 livraisons, 2.263 rouleaux. Il a été rejeté 3 livraisons comprenant 389 rouleaux, dont 77 défectueux.

En 1929, 24 livraisons, 1.503 rouleaux. Il a été refusé 2 livraisons comprenant 43 rouleaux, avec 24 défectueux.

En 1930, sur 42 livraisons, 2.878 rouleaux, 1 seule rejetée, soit 50 rouleaux, avec 23 défectueux.

En 1931, sur 44 livraisons, 2.423 rouleaux, 1 seule rejetée, soit 32 rouleaux avec 9 défectueux.

On suit très nettement les progrès de fabrication faits par l'usine, au début on relève de nombreuses livraisons défec-

(1) Cette perte peut paraître excessive et laisse supposer que notre méthode est un peu onéreuse, mais nous ne le croyons pas, car la perte ne dépasse jamais 2 à 3 p. 100.

(2) Le microbe que l'on rencontre le plus constamment dans les cultures est presque toujours le *B. mesentericus* et sa variété *rubus*.

tueuses, puis, peu à peu, par suite de l'étroite collaboration de cette usine avec le laboratoire, on ne constate que rarement de mauvaises livraisons, et celles-ci se rencontrent surtout parmi les n^{os} 2, 3, 4.

C'est ainsi qu'en 1926, sur les 220 rouleaux ayant donné des cultures, on trouve 152 n^{os} 1, 2, 3, 4; en 1927, 60 sur 75; en 1928, 43 sur 77; en 1929 et 1930, les 24 et 23 rouleaux qui ont donné des cultures sont des n^{os} 2, 3 et 4; il en est de même en 1931 où les 32 rouleaux défectueux sont des n^{os} 2, 3 et 4.

On peut donc constater que ce sont les cordes les plus fines qui donnent le pourcentage le plus élevé de culture.

Cette constatation n'a pas été sans nous surprendre, car les cordes sont constituées par un nombre plus ou moins grand de lanières tordues ensemble et l'on s'explique mal qu'une corde n^o 3 constituée par deux ou trois lanières cultive plus facilement qu'une corde n^o 6 ou n^o 7 qui en comprend cinq ou six (1).

LIVRAISONS ACCEPTÉES. — Nous avons dit que ces lanières comprenaient celles n'ayant donné lieu à aucune culture ou à un nombre très restreint; 1 ou 2 rouleaux, quelquefois 3 sur 100.

Dans ces rouleaux défectueux, toutes les cordes ne sont pas mauvaises, il n'y en a même qu'un très petit nombre.

Si l'on cherche à évaluer la proportion de ces dernières, on trouvera les chiffres suivants :

1926, 670 cordes sur 128.211 soit	0,51 p.	100
1927, 295 cordes sur 127.152 soit	0,23	—
1928, 290 cordes sur 115.598 soit	0,25	—
1929, 300 cordes sur 73.191 soit	0,41	—
1930, 310 cordes sur 148.802 soit	0,21	—
1931, 505 cordes sur 116.110 soit	0,47	—

Les résultats analytiques montrent que ce sont, comme dans le cas précédent, les n^{os} 2, 3, 4 qui donnent la plus forte proportion de cordes défectueuses.

(1) Pour la préparation des cordes voir : A. GORIS. Préparation de la corde à catguts. *Loc. cit.*

En 1926 sur les 670 cordes mauvaises on trouve 275 n^{os} 2, 3, 4, soit 41 p. 100 des cultivées.

En 1927 sur les 300 cordes mauvaises on trouve 110 n^{os} 2, 3, 4, soit 36,6 p. 100 des cultivées.

En 1928 sur les 290 cordes mauvaises on trouve 195 n^{os} 2, 3, 4, soit 67 p. 100 des cultivées.

En 1929 sur les 300 cordes mauvaises on trouve 180 n^{os} 2, 3, 4, soit 60 p. 100 des cultivées.

En 1930 sur les 315 cordes mauvaises on trouve 155 n^{os} 2, 3, 4, soit 50 p. 100 des cultivées.

En 1931 sur les 505 cordes mauvaises on trouve 335 n^{os} 2, 3, 4, soit 65 p. 100 des cultivées.

Comme dans les livraisons la quantité des cordes n^{os} 2, 3, 4 atteint à peine le tiers de la totalité, on voit que proportionnellement ce sont celles qui doivent être le plus surveillées.

Nous nous sommes appliqués à rechercher la cause de cette défectuosité des cordes fines.

Nous avons appris que, pour obtenir les cordes n^{os} 2, 3 et 4 en quantité importante, les ouvrières gardaient les lanières les plus fines pour ne les filer qu'au moment opportun, c'est-à-dire lorsqu'elles en avaient suffisamment accumulé pour pouvoir en garnir un cadre entier. Elles étaient ainsi amenées à faire une macération de lanières dans un liquide alcalin, il est vrai, mais quand même préjudiciable à la bonne qualité de la corde. La macération du boyau était remplacée par une macération des lanières.

Il fut alors recommandé aux ouvrières de traiter toutes les lanières le jour même pour éviter la macération et de mettre sur le même cadre les numéros les plus divers. Toutes les cordes ainsi faites furent soumises aux essais et le résultat fut des plus intéressants. Peu de cordes donnèrent des cultures, les défectueuses étant toutes des n^{os} 2 et 3.

La fermentation ne pouvait cette fois être incriminée et l'on devait penser à une contamination secondaire.

Après de nombreuses recherches dans différentes voies, nous avons constaté le rôle important du *soufrage* pour éliminer ces contaminations secondaires.

Le soufrage des cordes minces, étendues sur un cadre, est souvent défectueux parce que, séchant rapidement, elles sont introduites dans le souffoir dans un état de dessiccation tel que l'acide sulfureux n'a pas d'action sur elles, alors qu'il

NOMBRES	1926			1927			1928			1929			1930			1931		
	cordes			cordes			cordes			cordes			cordes			cordes		
	examinées	refusées	pourcentage	examinées	refusées	pourcentage	examinées	refusées	pourcentage	examinées	refusées	pourcentage	examinées	refusées	pourcentage	examinées	refusées	pourcentage
2	3.698	25	0,69	3.794	5	0,13	3.488	30	0,86	4.246	5	0,40	5.080	30	0,59	2.947	55	1,80
3	13.496	435	4,02	5.407	30	0,55	10.589	95	0,89	9.749	55	0,56	23.353	55	0,23	12.844	470	1,32
4	24.480	65	0,21	15.858	75	0,47	22.736	70	0,30	22.932	420	0,52	12.479	70	0,57	20.701	460	0,77
5	41.649	465	0,39	37.008	110	0,24	2.584	45	0,17	26.981	405	0,38	53.845	80	0,14	31.320	40	0,12
6	31.440	230	0,72	49.453	55	0,11	29.454	25	0,08	4.612	7	0,10	35.526	35	0,10	34.842	65	0,18
7	7.775	35	0,45	13.594	20	0,15	19.884	5	0,02	5.527	40	0,18	8.239	20	0,24	4.805	40	0,50
8	3.464	40	0,29	4.850	0	0	4.961	0	0	4.246	0	0	2.466	40	0,45	2.454	5	0,23
9	4.893	5	0,27	38	0	0	38	0	0	247	0	0	4.004	5	0,05	344	0	0
10	650	0	0	450	0	0	1.569	20	4,2	611	0	0	3.440	40	0,29	489	0	0

produit tout son effet sur les cordes qui sont restées humides en raison de leur plus gros diamètre.

Lorsque l'on prend la précaution d'éviter cette dessiccation des cordes fines avant de les introduire dans le soufroi, on ne constate plus de culture.

Le soufrage en vrac, obtenu en mettant les paquets de cordes humides, réunis en écheveaux, dans le soufroi ou dans une solution d'acide sulfureux, s'est révélé moins efficace que l'action du gaz sulfureux sur les cordes tendues séparément sur cadres.

Si donc l'emploi des cordes et des lanières n'ayant subi aucune macération est important pour éviter l'infection profonde de la corde, le soufrage joue un très grand rôle pour éviter les infections secondaires superficielles.

L'essai des cordes à leur réception a pour but de dépister ces infections secondaires, et, en retirant les rouleaux dans lesquels se trouvent ces cordes défectueuses, on peut être assuré d'obtenir des catguts stériles.

Enfin, *un troisième contrôle* est effectué sur les catguts avant leur livraison aux Etablissements. On prélève deux ou trois tubes dans chaque série de fabrication et on place le *catgut en entier* dans le tube de bouillon.

Au cours d'une année on a examiné ainsi 1.000 ou 1.200 catguts terminés, et, grâce à l'essai rigoureux préalable des cordes, on ne constate jamais de culture après la stérilisation.

D'ailleurs, nous insistons de nouveau sur ce fait que l'essai de réception se pratique après une stérilisation comportant deux tyndallisations, alors que la stérilisation des catguts comporte cinq chauffages dans l'alcool à 90°.

On peut donc conclure qu'il est possible d'obtenir industriellement des cordes dont la stérilisation est facile et que l'on peut livrer des catguts dont la stérilisation est parfaite (1).

Pour arriver à ce résultat, les cordes doivent être préparées suivant les indications que nous avons données, mais un *contrôle incessant très sérieux* doit être fait à chaque livraison.

(1) Notre opinion est basée sur le très grand nombre d'ensemencements pratiqués depuis quinze ans, sur les essais nombreux et sans cesse renouvelés, et sur le fait que toute défaillance de l'usine a été immédiatement dépistée par notre contrôle.

C'est d'ailleurs le meilleur moyen de prévenir l'industriel des défaillances qui peuvent se produire à l'usine.

De plus, il serait souhaitable, et pour terminer nous en formons le vœu, que, dans une boyauderie, l'atelier des catguts soit complètement séparé des autres ateliers, de façon à constituer une industrie toute spéciale. Les boyaudiers qui s'imposent des frais énormes pour le contrôle des qualités physiques des cordes de sport ou de lutherie pourraient très bien, sans grande dépense d'installation, pratiquer un contrôle biologique de leur fabrication.

ÉTUDES SUR LA PESTE BOVINE

Par H. JACOTOT.

(DEUXIÈME PARTIE)

SUR LE SÉRUM ANTIPESTIQUE

Depuis plus de trente ans qu'ont été reconnues les qualités du sérum des animaux guéris de peste et qu'ont été posées les bases de sa préparation industrielle, de nombreuses études ont été consacrées à cette question ; elle reste néanmoins sur certains points l'objet de controverses, tandis que sur d'autres les notions acquises manquent encore de précision.

Avant d'exposer nos expériences, nous passerons rapidement en revue les principaux facteurs qui peuvent intervenir pour modifier dans un sens ou dans l'autre les résultats de l'emploi expérimental du sérum antipestique.

Ces facteurs peuvent être groupés sous trois chefs : la valeur individuelle du producteur avant le traitement, le traitement qu'on lui fait subir, la sensibilité particulière du sujet auquel on administre le sérum.

LA VALEUR INDIVIDUELLE DU PRODUCTEUR.

Elle tient à deux causes : l'aptitude originelle de l'animal à donner un sérum de telle ou telle valeur et l'influence qu'ont pu exercer des traitements antérieurs sur la qualité de son sérum.

Pour réduire l'imprécision tenant à la première de ces causes, on mélange les sérums de plusieurs fournisseurs ; pour éliminer les erreurs d'appréciation que pourrait entraîner la seconde, il faut employer, comme producteurs, des animaux dont les antécédents sont connus.

LE TRAITEMENT QU'ON FAIT SUBIR AU PRODUCTEUR
EN VUE DE LA PRÉPARATION DU SÉRUM.

Les premiers expérimentateurs ont constaté que, si les animaux guéris de peste donnent ensuite un sérum pourvu de qualités immunisantes, leur aptitude à fournir un bon sérum ne tarde pas à faiblir : le problème se posait donc de rechercher un moyen de maintenir l'activité du sérum à un degré suffisant pour pouvoir employer longtemps les animaux producteurs ; on a résolu la question en « hyperimmunisant » ou « rechargeant » périodiquement ; mais ici une remarque s'impose.

Toutes les techniques proposées pour hyperimmuniser ont été inspirées par le souci d'administrer aux producteurs de sérum la plus grande quantité possible de virus, à prix égal : or, il est à remarquer que, pour la plupart de ces techniques, on ne possède aucun élément d'appréciation de cette quantité de virus.

Tel auteur, par exemple, saigne les veaux fournisseurs de virus à plusieurs reprises pour obtenir une plus grande quantité de sang ; est-il bien sûr qu'en procédant ainsi on introduise dans l'organisme du bœuf producteur de sérum un nombre d'unités virulentes plus grand qu'en administrant en une seule fois tout ce qu'on aurait pu obtenir d'une saignée unique, à blanc ? Car si l'on sait qu'au moment de l'acmé fébrile, par exemple, la virulence du sang se chiffre par 20 ou 25.000 unités au centimètre cube, on ignore totalement ce qu'elle devient au cours des saignées successives. La même remarque pourrait être faite au sujet du lavage du sang et du lavage des séreuses.

Autre exemple : Boynton propose d'employer à l'hyperimmunisation des extraits d'organes additionnés d'acide phénique ; les extraits ainsi préparés possèdent, comme l'a montré cet auteur, la particularité très intéressante de rester virulents pendant plusieurs semaines ; on pourrait ainsi, paraît-il, disposer d'une masse de matière virulente égale à celle du sang. Mais nous ferons observer que tout ce qu'on sait de l'activité de cet extrait d'organes, c'est qu'il s'est montré virulent à la

dose de 100 cent. cubes; cela prouve qu'il contenait au moins une unité virulente sous ce volume, mais non pas que sa richesse en germes était comparable à celle du sang.

Il serait désirable, en définitive, que dans les expériences comparatives concernant le mode d'hyperimmunisation des animaux producteurs de sérum, le titrage préalable du matériel virulent puisse être effectué, au moins approximativement.

LA SENSIBILITÉ PARTICULIÈRE DU SUJET D'ÉPREUVE.

On sait que le facteur individuel joue un rôle important dans l'évolution de la peste bovine naturellement contractée; ce rôle est au moins aussi marqué dans la maladie inoculée; il est parfois prépondérant lors d'infection expérimentale par injections simultanées de sérum et de virus; or, cette « séro-infection » est à l'heure actuelle la méthode de titrage du sérum antipestique la plus employée.

Le sujet de choix pour cette épreuve est, croyons-nous, le jeune animal de dix-huit mois à deux ans; bovin ou bubalin, il a franchi l'âge où pourrait subsister en lui quelque trace de l'immunité transmise aux jeunes par leurs parents immuns (et spécialement par leur mère); il est trop jeune, par contre, pour porter des tares organiques importantes et pour souffrir gravement des conséquences d'un surmenage physiologique, si fréquent dans le bétail indigène prématurément livré à la reproduction et au travail.

D'ailleurs, les expériences comparatives de séro-infection ne donnent des résultats nets, expressifs, que lorsqu'on y emploie des animaux en parfait état de santé et d'entretien.

Nous ne prétendons pas avoir observé toujours rigoureusement les principes que nous venons d'exposer, car les difficultés matérielles auxquelles se heurtent les expérimentateurs en ce domaine ne nous ont pas été épargnées; mais nous nous sommes efforcé de nous en écarter le moins possible.

Les jeunes animaux mâles ou femelles que nous avons employés dans toutes les expériences qui seront rapportées provenaient de la région de Nhatrang où aucun cas de peste ne s'est produit depuis six ans; ils étaient donc tous entièrement

réceptifs ; nous n'avons pas inoculé de témoins spéciaux, car toutes nos expériences étaient faites en même temps que l'un des trois passages hebdomadaires effectués pour la préparation du sérum et du vaccin antipestiques.

Enfin, nous ne considérons un sérum antipestique comme parfaitement actif qu'aux doses seulement où, administré en même temps que le virus, il neutralise totalement non pas ce virus, mais ses effets dans l'organisme, en s'opposant à tous accidents généraux ou locaux et à toute manifestation fébrile.

1° Sérum d'animaux convalescents ou récemment guéris de peste.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — On choisit quatre veaux, XG, XH, XI, XJ, qui, ayant été antérieurement vaccinés, et mal vaccinés, réagissent assez nettement à l'épreuve de l'inoculation virulente pour qu'on puisse les considérer comme *ne bénéficiant plus à ce moment d'une résistance appréciable*.

On les saigne dix-huit jours après l'inoculation virulente pour recueillir leurs sérums qu'on mélange.

Deux veaux de 400 kilogrammes reçoivent en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent ; l'un, AFQ, 30 cent. cubes de sérum ; l'autre, AFS, 50 cent. cubes de sérum (sérum de deux mois). Ils ne réagissent ni l'un ni l'autre.

On peut donc considérer que le sérum était sûrement actif dans les conditions de l'expérience à la dose de 30 cent. cubes.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — On choisit quatre veaux, XA, XB, YU, YS, qui préalablement vaccinés ont été ensuite éprouvés par inoculation virulente : *XA, XB et YS n'ont pas réagi à cette épreuve ; YU n'a fait qu'une réaction thermique*.

On les saigne (XA et XB, un mois après l'inoculation virulente ; YU, YS, quinze jours seulement), et trois mois après on procède au titrage de leur sérum.

Premier essai. — 3 génisses de 150 kilogrammes reçoivent respectivement, en même temps, que 2 cent. cubes de sang virulent :

AIH, 10 cent. cubes ; AII, 20 cent. cubes ; AIJ, 30 cent. cubes de sérum.

La première fait une maladie grave, la deuxième une maladie mortelle, la troisième réagit par une simple élévation thermique.

Deuxième essai. — 2 génisses de 150 kilogrammes reçoivent cette fois l'une 25 cent. cubes, l'autre 40 cent. cubes de sérum, en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent.

La première, AIT, fait une maladie d'intensité moyenne ; la deuxième, AIV, présente simplement un peu de fièvre.

Troisième essai. — 2 bouvillons de 150 kilogrammes reçoivent chacun, en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent, l'un, AIZ, 50 cent. cubes de sérum, l'autre, AJA, 70 cent. cubes de sérum (sérum de quatre mois). Ils ne manifestent aucun trouble ni l'un ni l'autre.

Le sérum de ce deuxième groupe de veaux convalescents était donc actif à une dose légèrement supérieure à 40 cent. cubes pour les jeunes bovidés de 140 à 150 kilogrammes.

TROISIÈME EXPÉRIENCE. — On choisit 5 veaux, MK, D-799, LA, KZ, LB, qui à la suite d'une injection de sang virulent *ont fait une peste grave, typique*.

On les saigne, à partir du quinzième jour, cinq fois de suite à quarante-huit heures d'intervalle. On recueille leurs sérums et les mélange.

Premier essai. — Le veau QM, de 100 kilogrammes, reçoit simultanément 2 cent. cubes de sang virulent et 40 cent. cubes de sérum; il marque une forte réaction thermique, mais ne présente pas de troubles généraux, ni de signes de peste.

Deuxième essai. — Les veaux E 610 et E-636 de 100 kilogrammes reçoivent chacun 40 cent. cubes de sérum et en même temps 2 cent. cubes de sang.

Le premier ne présente aucun trouble, le second fait simplement une réaction thermique en clocher du sixième au huitième jour.

Troisième essai. — Les veaux TA et TB de 100 kilogrammes reçoivent chacun 2 cent. cubes de sang et 20 cent. cubes de sérum.

Le premier accuse une réaction thermique forte avec quelques signes cliniques, le second fait une peste bovine d'intensité moyenne.

Par conséquent, le sérum employé dans ces essais était actif à une dose voisine de 40 cent. cubes chez les veaux de 100 kilogrammes soumis à la séro-infection.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE. — 5 veaux AEO, AEB, ARQ, AES, AEY, qui, à la suite de l'injection de sang virulent, *ont présenté des troubles graves (signes généraux, ulcérations buccales, diarrhée)* sont saignés vingt jours après l'inoculation virulente, puis une fois encore dix jours plus tard. On recueille leurs sérums et on les mélange.

Premier essai. — 2 veaux AKJ, AKK de 125 kilogrammes reçoivent en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent, le premier 15 cent. cubes, le deuxième 30 cent. cubes de sérum.

Le premier fait une peste grave, le deuxième reste indemne.

Deuxième essai. — 1 veau AKY de 150 kilogrammes reçoit simultanément 2 cent. cubes de sang virulent et 40 cent. cubes de sérum, il présente les symptômes d'une peste grave (dysenterie); on le sacrifie.

Troisième essai. — 1 veau ANU de 130 kilogrammes reçoit simultanément 2 cent. cubes de sang virulent et 55 cent. cubes de sérum; il manifeste une réaction thermique légère sans plus, puis fait un coryza gangréneux caractérisé dont il meurt.

Ici encore, par conséquent, le sérum s'est montré actif, dans la séro-infection des jeunes bovidés de 100-130 kilogrammes à une dose voisine de 40 cent. cubes, et plutôt supérieure.

De l'ensemble des résultats obtenus dans ces expériences, on peut conclure : 1° que le sérum des veaux convalescents de peste bovine expérimentale caractérisée est efficace à une dose comprise entre 25 et 45 cent. cubes pour les veaux de 100 à 125 kilogrammes, soumis à la séro-infection.

2° *Que l'activité du sérum de convalescents ne paraît pas être directement en rapport avec l'intensité de la maladie des animaux qui ont fourni ce sérum.*

2° Sérum d'animaux guéris de la maladie et saignés plusieurs mois après seulement.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — On choisit 4 bœufs, 730-733-739-740, qui ont été immunisés par séro-infection quatre mois avant; ils ont réagi nettement (fièvre durable, troubles généraux, diarrhée). On les saigne et mélange leurs sérums

Titrage du sérum. — 3 génisses de 150 kilogrammes reçoivent respectivement en même temps que 2 cent. cubes de sang : AJX, 40 cent. cubes de sérum, AJY, 60 cent. cubes, AJZ, 80 cent. cubes; la première réagit violemment, la deuxième modérément, la troisième reste à peu près indemne.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — On choisit encore 4 bœufs, 743-744-724-734, qui ont été séro-infectés cinq mois avant, ils ont réagi nettement, assez fortement. On les saigne et mélange leurs sérums.

Titrage du sérum. — *Premier essai.* 3 génisses de 150 kilogrammes, ALI, ALJ, ALK reçoivent respectivement, en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent, 40, 60 et 80 cent. cubes de sérum; la première fait une maladie grave, la deuxième, une maladie modérée, la troisième, bête en mauvais état, une maladie mortelle.

Deuxième essai. — 3 génisses de 150 kilogrammes, AOG, AOF, AOC, reçoivent respectivement, en même temps que 3 cent. cubes de sang virulent, 40, 60 et 80 cent. cubes de sérum; la première fait une maladie mortelle, la deuxième, une maladie grave, la troisième ne présente que deux poussées thermiques le cinquième et le onzième jour.

De ces deux expériences, on peut donc conclure que les bœufs immunisés par séro-infection, et chez lesquels l'immunité s'est établie au prix d'une réaction pestique bien caractérisée, donnent quatre ou cinq mois après un sérum dont l'activité est telle qu'injecté en même temps que le virus il peut neutraliser les effets de celui-ci à la dose de 80 cent. cubes, chez les jeunes bovidés d'un poids moyen de 150 kilogrammes.

3° Sérum d'animaux préparés par chargement de virus immédiatement après la guérison.

L'expérience suivante a été réalisée avec les veaux XG, XH, XI, XJ mentionnés plus haut. Ces veaux avaient été saignés dix-huit jours après l'ino-

culution virulente, en période de convalescence; nous avons vu que leurs sérums mélangés étaient sûrement actifs à la dose de 30 cent. cubes pour les veaux de 100 kilogrammes (essai par séro-infection).

Le lendemain de la saignée, chacun d'eux a reçu, par injections sous-cutanées multiples, 50 grammes de pulpe splénique virulente finement tamisée et diluée dans une quantité égale d'eau physiologique. On a effectué ensuite, à partir du huitième jour, 4 saignées successives de semaine en semaine; après la récolte, les sérums ont été mélangés.

Premier essai. — 2 veaux de 100 kilogrammes, ABZ et ACD, reçoivent, en même temps que 1 cent. cube de sang virulent, 5 cent. cubes de sérum; 2 autres veaux, ACF et ACC, reçoivent la même quantité de virus et 20 cent. cubes de sérum.

ACD et ACF réagissent cliniquement, mais ACD seul présente des symptômes graves; ABZ et ACC ont une fièvre assez forte et présentent quelques troubles généraux.

Deuxième essai. — 2 veaux de 100 kilogrammes, ADZ et AZZ, reçoivent chacun 2 cent. cubes de sang virulent et 40 cent. cubes de sérum; la réaction ne se traduit chez eux que par un mouvement fébrile léger de quelques jours,

Troisième essai. — 2 veaux de 100 kilogrammes, AFR et AEE, reçoivent en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent, l'un 30 cent. cubes de sérum et l'autre 50 cent. cubes; ils restent indemnes l'un et l'autre.

Il résulte de cette expérience que le chargement de virus effectué immédiatement après la guérison ne semble pas modifier sensiblement l'activité du sérum; dans le cas particulier, les essais ont montré que le sérum après chargement était actif à la dose de 30 cent. cubes, mais pas à la dose de 20 cent. cubes; or, comme nous l'avons rappelé, avant le chargement de virus, le sérum des mêmes animaux était déjà actif à la dose de 30 cent. cubes.

4^o Sérum d'animaux préparés par chargement de virus plusieurs mois après la guérison.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Considérons le groupe des bœufs 730-733-739-740 dont nous avons parlé précédemment (2^o, première expérience). Le titrage du sérum fourni par ces bœufs quatre mois après l'inoculation virulente, c'est-à-dire trois mois après leur guérison, nous a montré qu'une dose de 80 cent. cubes était nécessaire pour neutraliser les effets du virus (séro-infection).

Quelques jours après la récolte de ce sérum, les 4 bœufs ont été l'objet d'une injection de virus tissulaire; chacun d'eux a reçu 125 grammes de pulpe splénique virulente finement divisée puis émulsionnée dans une quantité égale d'eau physiologique; les saignées ont été effectuées ensuite à partir du dixième jour, quatre fois de suite, à une semaine d'intervalle; après la récolte, les sérums des 4 bœufs et des 4 saignées ont été mélangés.

Titrage. — 3 génisses, AMI, AMH, AMG, de 160 kilogrammes, reçoivent res-

pectivement, en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent, 30, 50 et 70 cent. cubes de sérum; la première présente un peu de fièvre pendant une dizaine de jours sans autres troubles, la deuxième reste indemne, la troisième fait une poussée thermique en clocher le septième jour, sans autre trouble.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Reprenons maintenant l'exemple des bœufs 741-744-724-734; nous avons montré plus haut (2^o, deuxième expérience) que, cinq mois après l'inoculation virulente, leur sérum, titré par séro-infection, était actif à la dose de 80 cent. cubes mais pas à moins. Après avoir recueilli le sang qui a donné ce sérum, on a chargé chaque bœuf de 1.500 cent. cubes de sang virulent par injection sous-cutanée; puis les saignées ont été effectuées, à partir du huitième jour et quatre fois de suite à une semaine d'intervalle; comme précédemment tous les sérums ont été mélangés.

Titrage. — 3 génisses, AOH, AOE, AOD, de 150 kilogrammes, reçoivent en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent 40, 60 et 80 cent. cubes de sérum respectivement; la première présente de très légers troubles fébriles pendant quelques jours, la deuxième un peu d'hyperthermie vespérale et des oscillations diurnes légèrement accentuées sans aucun trouble; chez la troisième le tracé de la courbe des températures n'est même pas modifié.

Voici d'ailleurs les courbes thermiques des sujets de cette expérience; notons que les essais des sérums récoltés avant et après le chargement ont été effectués simultanément, avec le même virus.

Ces deux expériences que nous avons conduites avec toute la rigueur désirable sont intéressantes à un double titre.

Elles montrent d'abord que le chargement de virus (hyper-immunisation), effectué trois et quatre mois après la guérison, a eu pour effet de relever l'activité du sérum dans des proportions telles que, préalablement actif aux doses voisines de 80 cent. cubes seulement, il l'était ensuite dans les mêmes conditions à des doses voisines de 50 cent. cubes.

Mais il faut en outre noter que les bœufs qui nous ont donné ces sérums n'ont présenté aucun trouble consécutivement à l'hyper-immunisation; ceci montre que, contrairement à ce que pensent certains auteurs, tout au moins en ce qui concerne les bovidés annamites, la qualité du sérum n'est pas conditionnée par la réaction du sujet à l'injection hyperimmunisante de virus.

5^o Rôle du facteur individuel.

L'expérience suivante a été faite avec 8 bœufs de dix ans, immunisés par séro-infection, avec réaction plusieurs années avant, et régulièrement employés à la préparation du sérum antipestique depuis un an (chargements répétés à intervalles de six semaines par injection de 6 litres de

TABLEAU I. — Sérum récolté avant le chargement.

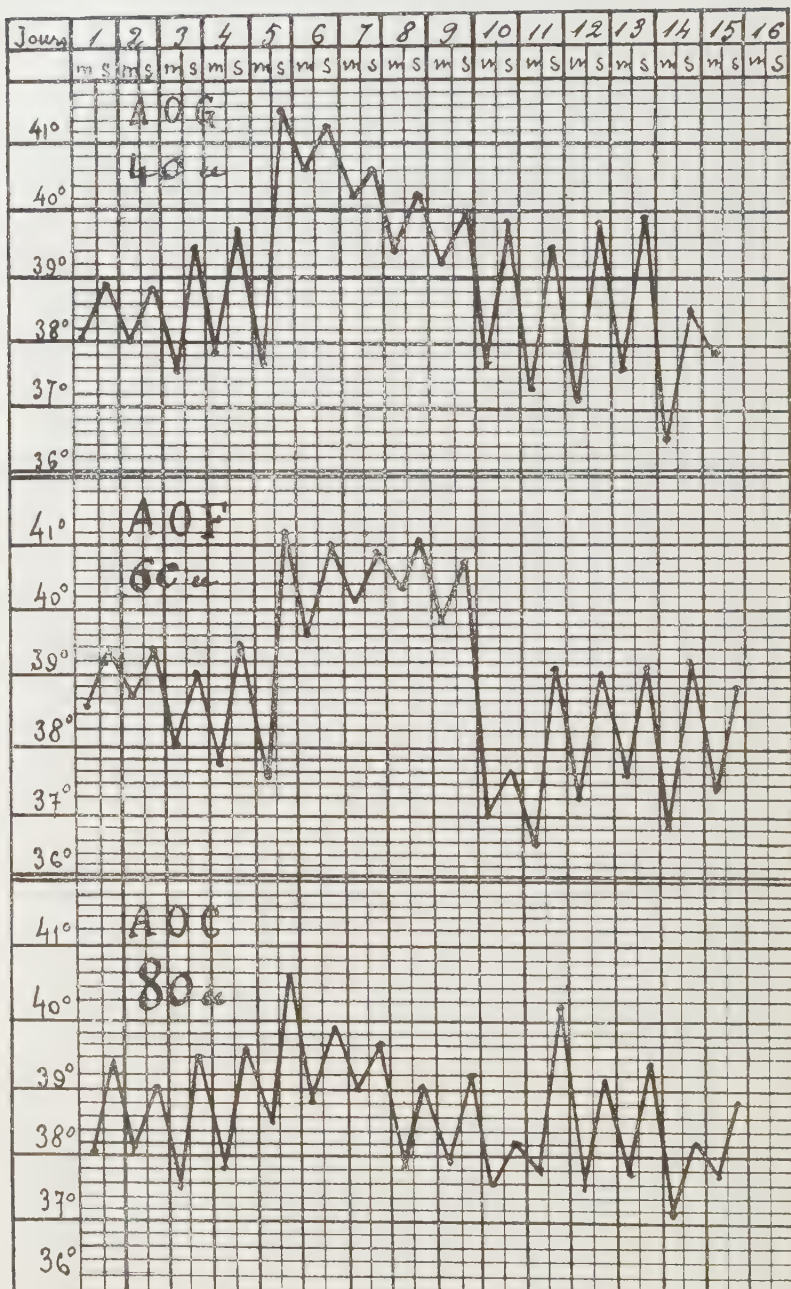
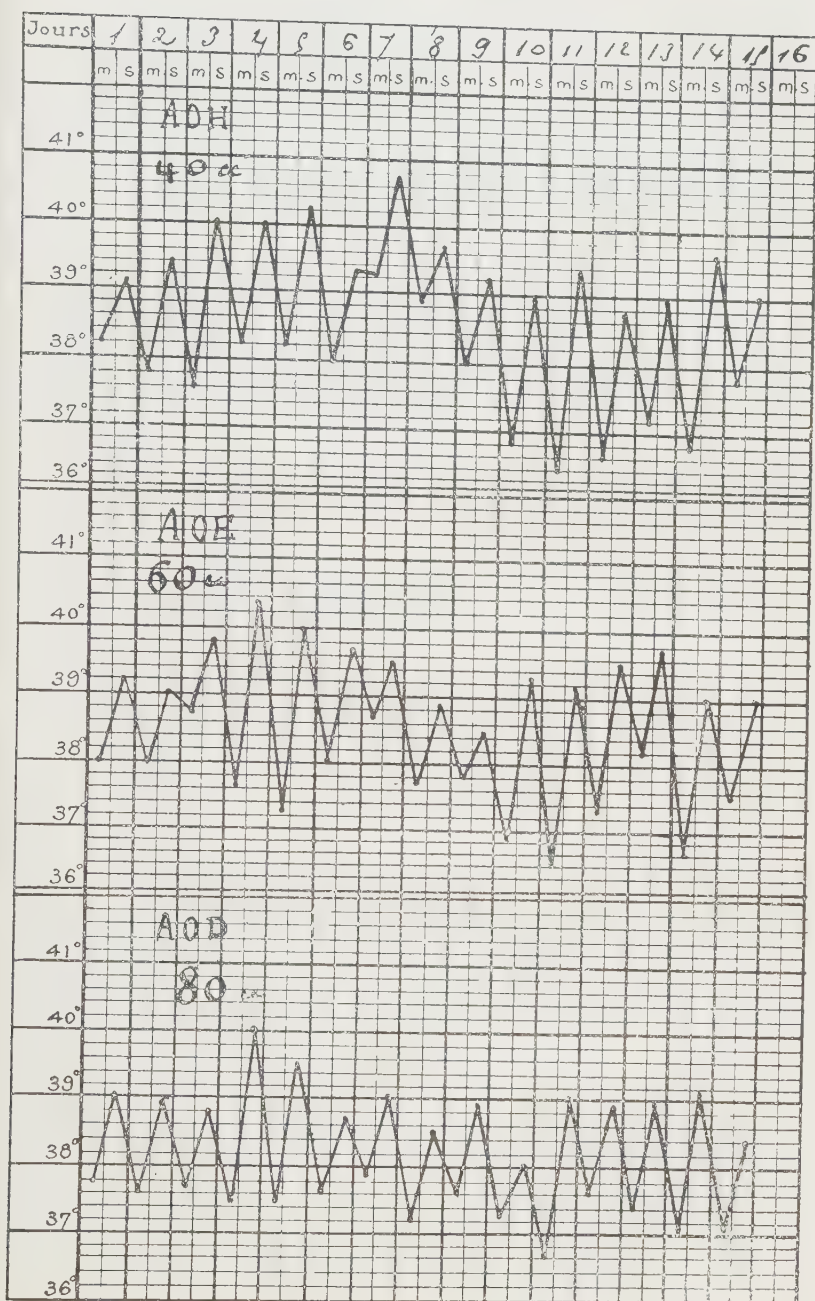


TABLEAU II. — Sérum récolté après le chargement.



liquide de lavage péritonéal chaque fois; entre temps, 4 saignées hebdomadaires).

Ces bœufs, après avoir reçu le chargement habituel de liquide de lavage péritonéal virulent, ont subi 4 saignées consécutives; les sérums provenant des 4 saignées de chaque bœuf ont été mélangés pour le titrage.

Dans un premier essai, 8 veaux de 100 kilogrammes ont reçu chacun 50 cent. cubes de l'un des sérums et 2 cent. cubes de sang virulent; dans le deuxième essai, 8 autres veaux ont reçu en même temps que 2 cent. cubes de virus une quantité de l'un des sérums fixée en tenant compte du résultat obtenu précédemment avec le même sérum employé à la dose de 50 cent. cubes.

Voici la conclusion de ces deux essais : sur les 8 sérums étudiés, 3 n'étaient pas actifs à la dose de 80 cent. cubes, 2 étaient actifs à cette dose et 3 étaient actifs à la dose de 60 cent. cubes ; le facteur individuel intervient donc pour une part assez importante dans l'activité du sérum antipestique, la différence en moins d'un sujet à l'autre pouvant atteindre 50 p. 100 de la valeur du sérum le plus actif.

6° Influence de la matière virulente employée à l'hyperimmunisation des fournisseurs.

Nous avons comparé dans des expériences diversement combinées les sérums obtenus après injection de liquide de lavage péritonéal, de sang ou de pulpes organiques.

a) HYPERIMMUNISATION AVEC DE LA PULPE SPLÉNIQUE ET HYPERIMMUNISATION AVEC DU SANG.

On choisit 8 bœufs qui tous ont été immunisés plusieurs années avant par séro-infection et avec réaction et qui, depuis un an, ont été employés à la préparation du sérum antipestique par le procédé du liquide de lavage péritonéal. 4 de ces bœufs sont hyperimmunisés par injection de sang virulent (1.100 cent. cubes par tête), les 4 autres par injection de pulpe splénique virulente (130 grammes par tête) en émulsion dans de l'eau physiologique (1).

Titrage du sérum-pulpe. — Premier essai. 2 veaux ACB et ACG reçoivent chacun, en même temps que 1 cent. cube de sang virulent, 10 cent. cubes de sérum-pulpe; 2 autres veaux, ACA et ACE, 1 cent. cube de sang et 40 cent. cubes de sérum-pulpe.

ACB présente une réaction thermique assez forte sans signes cliniques. ACG fait une maladie grave.

(1) Il s'agit de pulpe virulente et non de pulpe vaccinale avirulente.

ACA présente une réaction thermique assez forte sans plus.

ACE réagit plus fortement, mais chez lui le surra évolue simultanément.

Deuxième essai. — 2 génisses ACV et ACY reçoivent en même temps que 1 cent. cube de virus, 50 cent. cubes de sérum, 2 autres, ACU, ACX, 1 cent. cube de virus et 70 cent. cubes de sérum.

Les unes et les autres ne présentent que des troubles très légers sans que leur état général ne subisse d'altération.

Troisième essai. — On essaie parallèlement le sérum-pulpe et le sérum obtenu après chargement de sang virulent; on emploie pour cela 6 veaux de 150 kilogrammes; à tous on injecte 2 cent. cubes de sang virulent et, en outre :

ADX-AEC reçoivent 60 cent. cubes de sérum-pulpe;

AEA reçoit 70 cent. cubes du même sérum;

ADY-AEB reçoivent 60 cent. cubes de sérum-sang;

AED reçoit 70 cent. cubes du même sérum.

La réaction se traduit chez ces animaux par un mouvement fébrile léger qui dure une huitaine de jours (au-dessous de 40°); seul, ADY réagit un peu plus nettement (jusqu'à 41°).

Il résulte de ces essais comparatifs que l'activité du sérum obtenu par injection de 130 grammes de pulpe splénique virulente était comparable à celle du sérum obtenu par injection de 1.100 cent. cubes de sang; ces deux sérums ont donné des résultats satisfaisants à la dose de 60 cent. cubes, ce qui est normal et conforme à ce que nous avons vu précédemment (4°, première et deuxième expériences).

b) HYPERIMMUNISATION PAR INJECTIONS SIMULTANÉES DE PULPE ET DE SANG VIRULENT.

On choisit 4 bœufs qui ont été séro-infectés avec réaction quatre ans avant et qui, depuis, n'ont jamais été employés à la préparation du sérum : nos 639, 761, 768, 940.

On les saigne avant tout traitement et on mélange les sérums recueillis.

On leur injecte ensuite à chacun 1 litre de sang virulent et 50 grammes de pulpe splénique virulente émulsionnée dans une quantité égale d'eau physiologique; on les saigne ensuite, une première fois dix jours après le chargement, une deuxième fois huit jours plus tard et on mélange leurs sérums.

Titrage. — On choisit 6 génisses de 150 kilogrammes qu'on range en deux groupes : dans le premier consacré à l'essai du sérum recueilli avant le chargement, AIB reçoit 40 cent. cubes, AID 60 cent. cubes, AIC 80 cent. cubes de ce sérum; dans le second réservé à l'essai du sérum obtenu après chargement, AIA reçoit 40 cent. cubes, AIE 60 cent. cubes, AHZ 80 cent. cubes; les 6 génisses sont, en outre, infectées par injection de 2 cent. cubes de sang virulent.

Dans le premier groupe, AIB fait une peste caractérisée mais guérit, AID

TABLEAU III. — Sérum récolté avant le chargement.

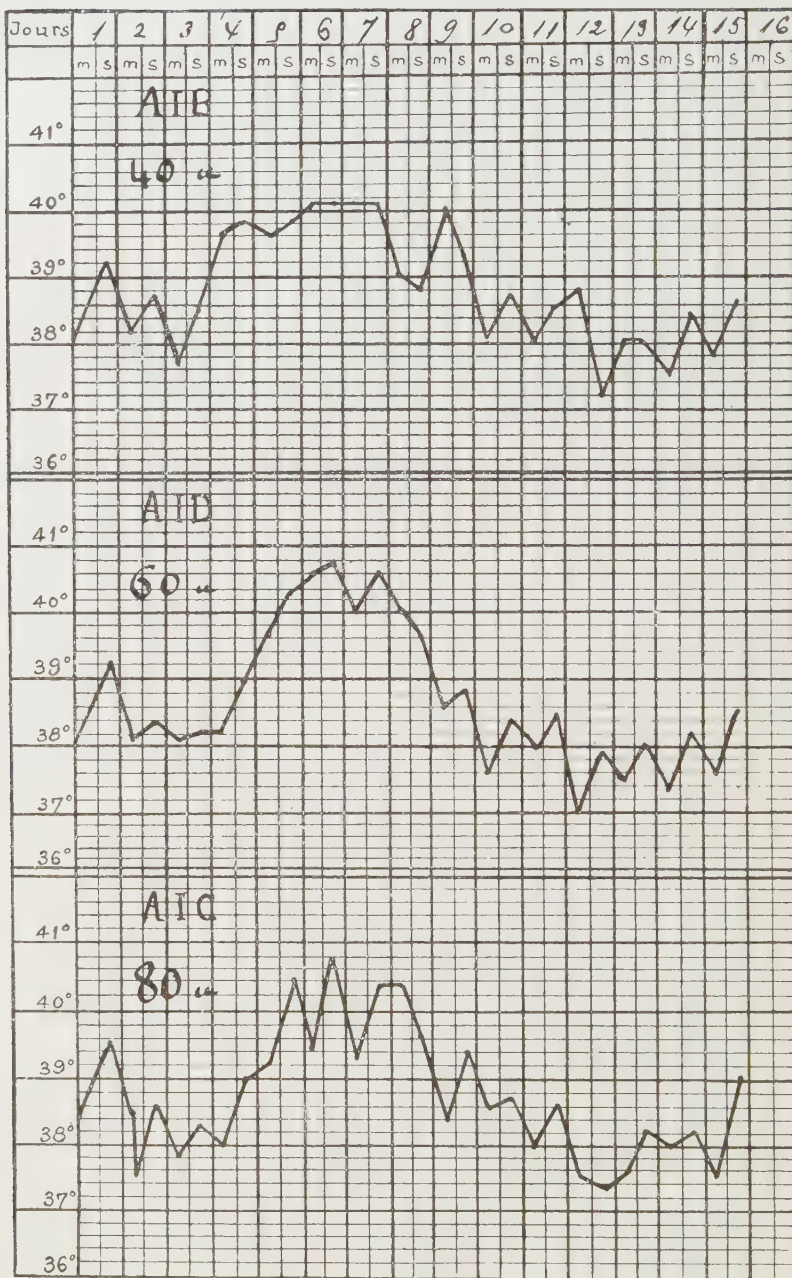
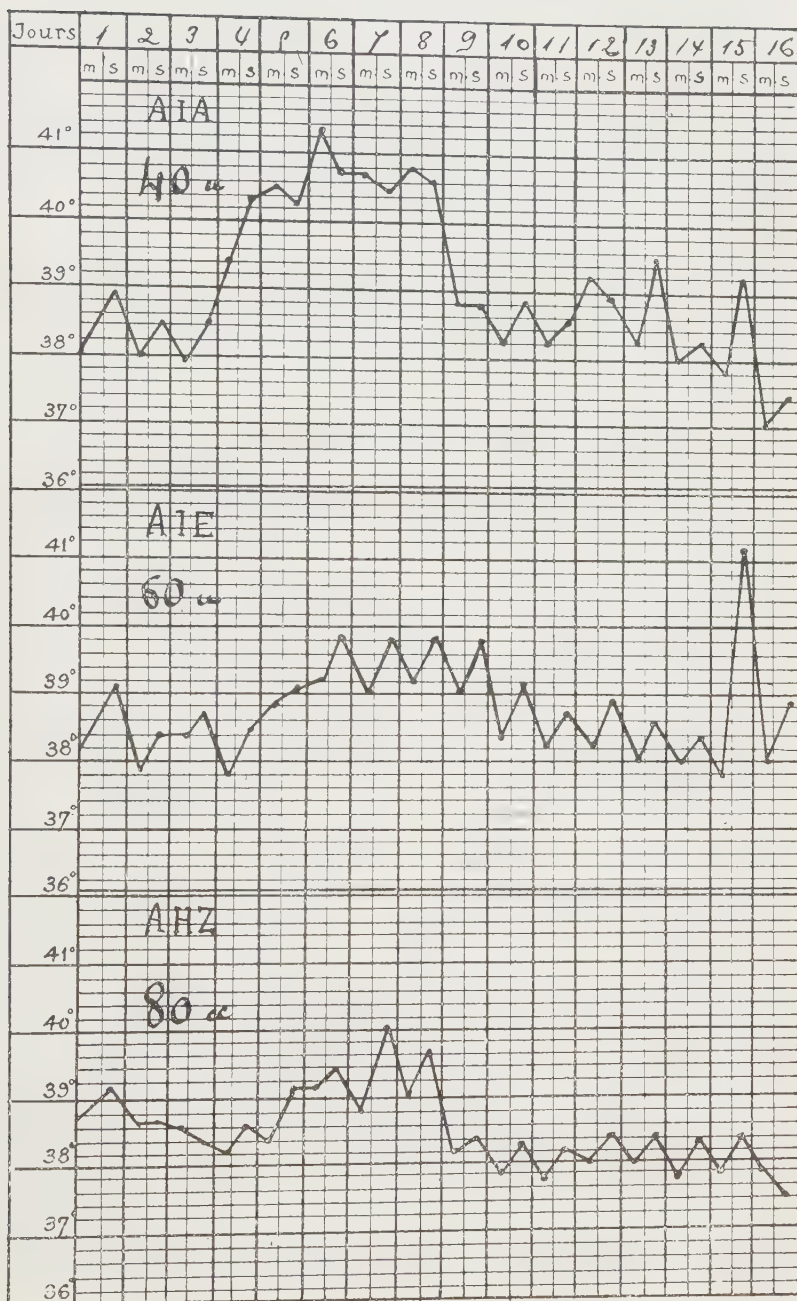


TABLEAU IV. — Sérum récolté après le chargement.



et AIC réagissent par une forte fièvre de une semaine et présentent quelques troubles généraux.

Dans le deuxième groupe, AIA fait une peste grave et guérit, AIE et AHZ restent indemnes.

Ainsi le sérum qui, d'abord, n'était pas suffisamment actif à la dose de 80 cent. cubes l'était ensuite à la dose de 60 cent. cubes, après l'hyperimmunisation avec un litre de sang et 50 grammes de pulpe splénique.

c) SÉRUM DES BŒUFS CHARGÉS

AVEC DU LIQUIDE DE LAVAGE PÉRITONÉAL

ET AVEC

UNE ÉMULSION DE PULPE SPLÉNIQUE COMPARATIVEMENT ENTRE EUX
ET AVEC LE SÉRUM D'ANIMAUX CONVALESCENTS.

On choisit 8 bœufs immunisés depuis plusieurs années et employés à la préparation du sérum antipestique (chargement avec du liquide de lavage); on les range en deux groupes de 4; les animaux de l'un de ces groupes sont hyperimmunisés par injection de 125 grammes de pulpe splénique virulente, les autres par injection de 6 litres de liquide de lavage péritonéal; on les saigne ensuite dans les mêmes conditions à partir du dixième jour et quatre fois de suite de semaine en semaine; pour chaque groupe, on fait un mélange unique des sérums des 4 bœufs et des 4 saignées.

Premier essai. — 2 veaux de 125 kilogrammes reçoivent avec 2 cent. cubes de sang virulent; l'un, D-982, 30 cent. cubes de sérum-pulpe, l'autre, D-986, 50 cent. cubes de sérum-liquide de lavage; D-982 réagit par une fièvre d'une semaine sans plus, D-983 fait une peste caractérisée grave (décubitus, diarrhée, ulcérations buccales).

Deuxième essai. — 3 veaux de 100 kilogrammes reçoivent avec 2 cent. cubes de sang virulent, l'un, QL, 40 cent. cubes de sérum-pulpe, l'autre, QN, 40 cent. cubes de sérum-liquide de lavage, le troisième, QM, 40 cent. cubes du sérum de convalescents que nous avons étudié précédemment (1^o, troisième expérience).

QL réagit par une fièvre modérée sans plus; QM par une forte fièvre; QN fait une peste caractérisée d'intensité moyenne.

Troisième essai. — 6 veaux de 110 kilogrammes sont infectés par injection de 2 cent. cubes de sang virulent; en outre, deux d'entre eux, E-622, E-625, reçoivent 40 cent. cubes de sérum-pulpe, 2 autres, E-618, E-613, 40 cent. cubes de sérum-liquide de lavage, les deux derniers, E-610, E-636, 40 cent. cubes de sérum de convalescents, E-623 et E-610 restent indemnes, E-625 et E-636 réagissent par une fièvre modérée sans plus, E-618 fait une peste mortelle, E-613 une peste très grave.

De ces essais, on peut conclure que le sérum obtenu après chargement par injection de pulpe splénique virulente avait un

pouvoir comparable à celui du sérum des veaux convalescents et que l'un et l'autre étaient plus actifs que le sérum obtenu après chargement par injection de liquide de lavage péritonéal.

d) SÉRUMS OBTENUS APRÈS INJECTIONS SIMULTANÉES
DE PULPE SPLÉNIQUE ET DE SANG OU DE LIQUIDE
DE LAVAGE PÉRITONÉAL ET DE SANG.

4 bœufs, animaux fournisseurs de sérum, hyperimmunisés jusqu'à ce jour par injection de liquide de lavage péritonéal virulent, reçoivent chacun 125 grammes de pulpe splénique et 1.500 cent. cubes de sang virulent par injections sous-cutanées ; 4 autres bœufs, ayant les mêmes antécédents, reçoivent 6 litres de liquide de lavage de 1.500 cent. cubes de sang. On les saigne tous, quatre fois de suite comme ceux des expériences précédentes et, pour chaque groupe, on mélange tous les sérums obtenus.

Premier essai. — 2 veaux de 100 kilogrammes reçoivent un matin, l'un, E-660, 40 cent. cubes de sérum pulpe-sang, l'autre, UC, 40 cent. cubes de sérum-liquide de lavage-sang ; le soir, dix heures après, on leur injecte à chacun 2 cent. cubes de sang virulent ; le premier réagit par une fièvre nette qui dure dix jours, le second présente également de la fièvre et en plus des signes classiques de peste bovine.

Deuxième essai. — 2 autres veaux reçoivent en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent chacun, l'un, E-679, 40 cent. cubes de sérum pulpe-sang, l'autre, UD, 40 cent. cubes de sérum liquide de lavage sang ; ils se comportent de façon tout à fait comparable aux 2 précédents, l'un ne présentant que de l'hyperthermie, l'autre faisant une peste caractérisée.

On peut conclure de cette expérience que l'association du sang et de la pulpe splénique permet d'obtenir un sérum plus actif que l'association du sang et du liquide de lavage péritonéal.

e) ESSAI DE PRÉPARATION D'UN SÉRUM D'ACTIVITÉ TRÈS ÉLEVÉE.

Nous nous sommes proposé de relever la puissance du sérum en augmentant la quantité de pulpe virulente administrée aux bœufs en même temps que le sang ; mais, comme la masse de pulpe splénique que fournit un veau est assez réduite, nous avons essayé de tirer parti de la pulpe pulmonaire ; une difficulté majeure se présentait alors : le tissu pulmonaire étant très riche en germes divers, lorsqu'on l'injecte sous la peau il se développe le plus souvent des abcès aux points d'inoculation ; il ne faut pas songer d'ailleurs à tourner la difficulté en additionnant la préparation d'un antiseptique, car, le virus

pestique étant très fragile à cet égard, on le détruirait partiellement, sinon en totalité; quoi qu'il en soit, avec quelques précautions — et un peu de chance aussi — nous avons pu, à deux reprises, effectuer sans accidents l'opération projetée; nous rapporterons la plus intéressante de ces deux expériences.

PRÉPARATION DU SÉRUM.

2 bœufs annamites adultes, les nos 1014 et 1033, choisis dans le troupeau de nos fournisseurs de sérum et qui, six mois avant, avaient été immunisés par séro-infection, ont reçu chacun, sous la peau, en août 1928, d'une part 1 litre de sang virulent d'un veau de passage, et d'autre part 350 cent. cubes d'une pulpe virulente obtenue par broyage de la rate et des poumons du même veau. On les a saignés ultérieurement et à cinq reprises, huit, quinze, vingt-deux, vingt-neuf et trente-six jours après ces inoculations. On a réuni enfin en un seul mélange tous les sérums obtenus.

EMPLOIS COMPARATIFS DE CE SÉRUM ET D'UN SÉRUM PRÉPARÉ PAR UNE MÉTHODE USUELLE.

1° *Essai de séro-prévention.*

2 veaux reçoivent un matin sous la peau, l'un, C-679, 45 cent. cubes du sérum préparé spécialement, l'autre 391-H, 60 cent. cubes d'un sérum obtenu par injection aux bœufs fournisseurs de 2 litres de sang virulent et de 3 litres de liquide de lavage péritonéal. Huit heures après on injecte à chacun 2 cent. cubes de sang virulent.

Le premier ne réagit pas, le deuxième au contraire fait une réaction thermique assez forte et une réaction clinique nette avec exulcérations de la muqueuse buccale; cet animal reste néanmoins en très bon état et guérit rapidement.

2° *Essai de séro-infection.*

2 veaux reçoivent l'un, C-317, 30 cent. cubes du sérum préparé spécialement et 2 cent. cubes de sang virulent, l'autre, 6-420, 60 cent. cubes d'un sérum préparé par injection de 6 litres de liquide de lavage aux bœufs fournisseurs, et 2 cent. cubes de sang virulent également.

Le premier présente quelques oscillations de température très réduites, le second fait une réaction thermique caractérisée et présente des signes cliniques légers.

Ces expériences comparatives de séro-prévention et de séro-infection ont été répétées 3 fois chacune en prenant comme sérums témoins des sérums de provenances différentes; elles ont donné toujours des résultats comparables à ceux rapportés ici.

3° Essais de sérothérapie.

Nous avons à différentes reprises traité comparativement, avec le *sérum spécial* et avec un sérum témoin, des veaux inoculés de peste, trois, quatre ou cinq jours avant et fébricitants depuis au moins quarante-huit heures; nous injections dans la veine 100 cent. cubes de sérum le premier jour, 50 cent. cubes le deuxième et dans certains cas 50 cent. cubes le troisième jour.

Des 5 sujets que nous avons traités par le sérum spécial, 4 ont guéri rapidement; ce sont les nos 380-I, 380-K, 381-G, 391-C; leur peste a avorté sans faire de lésions buccales et sans déterminer de diarrhée; le cinquième, le n° 386-C, un veau mal venu et très amaigri au départ, est mort d'épuisement vingt-deux jours après l'inoculation virulente, malgré l'heureuse influence manifestement produite sur lui par les injections de sérum.

Des sujets traités par un sérum témoin, 4 sont morts; les nos 381-K, 382-J, 382-L, 386-D; le cinquième, le n° 391-A, a fait une peste d'intensité moyenne avec ulcérations buccales en nappe; la mortalité dans cet ensemble d'animaux a été aussi élevée qu'elle l'est à cette époque de l'année parmi nos fournisseurs de virus.

TITRAGE DU SÉRUM.

Premier essai. — 2 veaux de 100 kilogrammes reçoivent en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent, l'un, C-917, 30 cent. cubes du *sérum spécial*, l'autre, C-920, 60 cent. cubes d'un sérum préparé par injection de liquide péritonéal.

C-917 reste à peu près indemne, C-920 réagit par une forte fièvre et par quelques signes cliniques légers.

Deuxième essai. — 2 veaux de 100 kilogrammes reçoivent en même temps que 2 cent. cubes de sang virulent, l'un, 863, 30 cent. cubes du *sérum spécial*, l'autre FN, 60 cent. cubes du même sérum témoin que dans l'essai précédent. 863 reste indemne, FN fait une forte réaction.

Troisième essai. — 2 veaux de 100 kilogrammes reçoivent en même temps que 2 cent. cubes du sang virulent, l'un FX, 20 cent. cubes du *sérum spécial*, l'autre FZ, 50 cent. cubes d'un sérum préparé par injection aux fournisseurs de 2 litres de sang et de 3 litres de liquide péritonéal virulent.

FX reste indemne, FZ réagit par une fièvre d'une semaine.

De toutes ces expériences nous pouvons conclure qu'il est possible de préparer par des injections simultanées de pulpes organiques virulentes et de sang virulent aux bœufs producteurs un sérum antipestique d'activité nettement supérieure à celle des sérums obtenus par les procédés ordinaires : injections de sang et de liquide péritonéal seuls ou associés.

7° La teneur en éléments virulents du sang des pulpes organiques et du liquide de lavage péritonéal.

Dans des expériences qui datent de quinze ans, Schein a établi que, chez la chèvre annamite atteinte de peste, au moment du maximum thermique, le sang contient 25 000 unités virulentes ou groupes d'unités virulentes par centimètre cube.

Nous avons pu au cours de plusieurs expériences confirmer cette notion, l'ensemble des essais que nous avons effectués à partir du sang de veaux saignés au moment du maximum thermique se résume de la manière suivante : le sang a été trouvé virulent 2 fois sur 3 au 1/25.000, 0 fois sur 2 et 0 fois sur 3 au 1/30.000 et au 1/50.000, 1 fois sur 4 au 1/75.000, 0 fois sur 4 au 1/100.000.

Nous nous sommes proposé de rechercher, d'autre part, le degré de virulence de quelques organes de veaux atteints de peste bovine; la technique expérimentale que nous avons employée a été exposée antérieurement. (Etude sur la peste bovine. Première partie : La teneur du virus de quelques tissus des animaux atteints de peste bovine.)

Voici les chiffres obtenus pour la rate et le poumon :

La rate a été trouvée virulente au 1/25.000, 1 fois sur 2, au 1/50.000, 1 fois sur 2, au 1/100.000, 0 fois sur 2; au 1/150.000 et au 1/200.000, dans des expériences uniques, elle s'est montrée également avirulente.

La pulpe pulmonaire a été employée sans résultat, 1 fois en dilution au 1/50.000, 1 fois en dilution au 1/100.000.

Enfin pour évaluer la richesse en germes du liquide péritonéal nous avons effectué les expériences suivantes :

Dans une première série d'essais on a injecté, dans la cavité péritonéale de veaux en pleine réaction, 12 litres de sérum physiologique stérile; on récoltait 6 litres environ de liquide virulent trois ou quatre heures après; on diluait pour amener au titre voulu et l'on injectait immédiatement après.

Nous avons essayé 2 fois la dilution au 1/100, les 2 fois sans résultat, 2 fois la dilution au 1/50 avec une réussite et un échec; 2 fois la dilution au 1/25 et 2 fois la dilution au 1/10, ces 4 fois avec succès.

Dans une deuxième série d'essais, le lavage du péritoine a été fait avec 3 litres seulement de solution physiologique; la récolte effectuée quatre heures après donnait en moyenne 1 lit. 500 de liquide virulent.

On a essayé 2 fois la dilution au 1/100 sans résultat, 1 fois la dilution au 1/75 et 1 fois la dilution au 1/50 sans résultat non plus.

De tout cela il résulte :

1° *Que la pulpe splénique et la pulpe pulmonaire ne sont pas plus riches en virus que le sang, et que la teneur de la rate en éléments virulents est comparable à celle du sang.*

2° *Que le liquide de lavage péritonéal est très pauvre en éléments virulents et, approximativement, mille fois moins riche que le sang.*

Il apparaît ainsi que le liquide de lavage a une valeur très inférieure au sang pour la préparation du sérum antipestique; on admet en effet que l'un et l'autre agissent par le virus qu'ils contiennent et proportionnellement à leur teneur en virus; d'ailleurs si l'un d'eux pouvait tenir des qualités spéciales de sa structure, ce serait le sang plutôt que le liquide péritonéal.

Mais on peut se demander d'où résulte l'influence des pulpes d'organes sur la qualité du sérum des animaux auxquels on les injecte, étant acquis que leur teneur en virus ne dépasse pas celle du sang; nous avons vu qu'en chargeant les producteurs de sérum avec une centaine de grammes de pulpe splénique on pourrait obtenir un sérum aussi actif que celui de bœufs chargés avec un litre de sang, et l'association des pulpes spléniques et pulmonaires au sang nous a permis de préparer un sérum supérieur à tous ceux que nous avons préparés, même au meilleur des sérums que nous ont donnés des sujets convalescents de peste.

Il ne semble pas qu'ici la quantité de virus intervienne ou du moins qu'elle soit seule en cause, car la masse d'unités virulentes injectées avec la pulpe reste toujours faible; on peut admettre ou que la substance tissulaire employée produit une action de choc qui stimule l'élaboration des principes actifs du sérum, ou que le virus fixé sur les éléments anatomiques des organes mentionnés possède quelque propriété particulière dont serait dépourvu le virus contenu dans les humeurs et notamment dans le sang.

OBSERVATIONS A PROPOS DE LA SÉRO-INFECTION ANTIPESTIQUE

On désigne sous le nom de séro-infection l'injection simultanée aux animaux réceptifs, en deux points distincts, de sérum antipestique et de virus pestique; cette opération a pour objet de donner aux animaux une maladie légère, inapparente dans les meilleures conditions et qui les immunise solidement. Elle a été jusqu'à ces dernières années la meilleure vaccination du bétail contre la peste; en Indo-Chine le Service vétérinaire l'a fréquemment appliquée, depuis trente ans, à la suite des travaux qui furent effectués à son sujet à l'Institut Pasteur de Nhatrang.

Nous exposerons ici les observations que nous avons faites sur quelques points particuliers de cette question, et qui méritent de retenir l'attention.

Suites de la séro-infection chez les femelles en gestation.

On sait que les femelles gestantes touchées par le virus pestique sont menacées d'avortement lorsque la maladie évolue naturellement chez elles et même lorsqu'elle fait dans leur organisme une évolution atténuée après la séro-infection.

En 1924, l'élevage de l'Institut Pasteur de Nhatrang a été contaminé de peste bovine; le troupeau comptait alors 170 vaches et 65 veaux réceptifs; l'examen des animaux au moment où apparurent les premiers cas permit de constater que tous les veaux étaient sains et que, parmi les vaches, il y avait 15 malades et 25 suspectes, fébricitantes.

On procéda à la séro-infection de tous les sujets indemnes et l'on traita les malades; les opérations réussirent parfaitement; un mois après le foyer était éteint; parmi les malades 2 vaches étaient mortes; dans le reste du troupeau, soumis à la séro-infection, 27 vaches et 8 veaux avaient présenté des signes cliniques de peste, 1 vache et 2 veaux étaient morts, ce qui donnait une mortalité de 0,64 p. 100 pour les vaches séro-infectées et de 3 p. 100 pour les veaux séro-infectés.

Nous avons suivi de près dans la suite les vaches de ce troupeau; voici ce que nous avons relevé.

Dans les six mois qui ont suivi la séro-infection 95 vaches ont mis bas à terme; sur les 95 veaux, 15 sont venus mort-nés et 9 sont nés non viables, soit au total un déchet de 25 p. 100.

En outre dans les quatre mois qui ont suivi la séro-infection, sur 160 vaches qui étaient en gestation au moment de la double inoculation, 23 ont avorté, soit 14 p. 100.

Étude de l'infectiosité des femelles au moment de l'avortement consécutif à l'inoculation virulente.

Il nous a paru intéressant de rechercher si, lors de ces avortements, dus au virus pestique, le fœtus et la vache pouvaient propager le contagé.

*Première partie :**Recherche du virus dans l'organisme du fœtus.*

Nous avons effectué 17 essais sur des fœtus expulsés du vingt et unième au quatre-vingt-sixième jour après la séro-infection; nous noterons en passant que la plupart des vaches n'avaient réagi que de façon légère ou modérée à cette séro-infection. C'est dans le sang des fœtus le plus souvent et parfois dans leurs parenchymes que nous avons recherché le virus; pour cela nous inoculions des veaux; ceux d'entre eux qui n'ont pas contracté la peste ont été éprouvés ensuite par inoculation de sang virulent de passage. 15 fois sur 17, il ne nous a pas été possible de mettre le virus en évidence dans le matériel prélevé; il s'agissait de fœtus expulsés vingt-sept, trente, trente-six, trente-sept et jusqu'à quatre-vingt-six jours après la séro-infection de leur mère.

Dans 2 cas au contraire la virulence du sang des fœtus s'est manifestée très nettement, les voici succinctement :

1° La vache n° 50 a été séro-infectée le 18 avril 1923; le 10 mars, soit vingt et un jours après, alors que la température est redevenue normale, cette vache, dont l'état général est excellent, expulse un fœtus de sept mois environ.

On injecte au veau 93 B 20 cent. cubes de sang de ce fœtus, il fait la peste; éprouvé par inoculation de virus de passage vingt-cinq jours après, il ne réagira pas.

Remarque. — Dans la journée où s'est produit l'avortement, on a injecté 5 cent. cubes de sang de la vache à un veau 93 A; ce veau a fait une peste bovine typique; réinoculé un mois après il n'a pas réagi; donc au moment de l'avortement, vingt et un jours après la séro-infection, le sang de la vache était encore virulent.

2° La vache 432 a été séro-infectée le 10 juillet 1924; elle avorte le 12 août, soit trente-trois jours après. On prélève le sang du fœtus et en injecte 10 cent. cubes au veau 159 B et 10 cent. cubes au veau 159 C; le premier fait une peste mortelle; son sang prélevé le huitième jour donne la maladie à un veau 165 D; le deuxième fait une peste fruste, faussée par l'évolution simultanée d'une infection par *Trypanosoma annamense*; à la réinoculation trois semaines après, il restera indemne.

Ainsi sur 17 fœtus expulsés consécutivement à la séro-infection, il s'en est trouvé 2 dans l'économie desquels on a pu déceler du virus pestique, l'un ayant été rejeté vingt et un jours après la séro-infection et l'autre trente-trois jours; mais il convient de remarquer que chez d'autres fœtus expulsés dans des délais voisins, vingt-sept, trente, trente-six jours, il n'a pas été possible de retrouver le virus.

*Deuxième partie : Recherche du virus
dans les liquides rejetés par les voies génitales
après l'avortement.*

Nous avons effectué trois essais, l'un trente-quatre jours, deux autres soixante-douze jours après l'infection; l'une des vaches étudiées avait avorté deux jours avant; une autre vingt-quatre heures, la troisième quelques heures seulement; nous n'avons retrouvé le virus pestique qu'une seule fois et dans les circonstances suivantes :

La vache 351B ayant reçu du virus pestique le 17 avril présente une forte réaction, et, bien plus tard, le 21 mai, soit trente-quatre jours après, expulse un fœtus de cinq mois; la délivrance se fait normalement. On prélève dans le vagin une petite quantité de mucus et une glaire lochiale; on dilue dans de l'eau physiologique et on injecte à un veau AL; ce veau fait une peste typique et meurt. Il faut noter que le sang de la vache s'est montré avirulent au même moment, à la dose de 50 cent. cubes.

Ainsi nous avons pu déceler la présence du virus pestique dans les liquides contenus dans le vagin d'une vache qui avait été inoculée de peste bovine trente-quatre jours auparavant et qui venait d'avorter.

En résumé, les choses se passent un peu comme si l'infection pestique pouvait se prolonger dans l'organisme des vaches en gestation et dans l'organisme de leur fœtus. D'un point de vue pratique, les résultats que nous avons rapportés nous conduisent à considérer les femelles gestantes frappées de peste bovine, et par là même toujours menacées d'avortement, comme susceptibles de propager le virus pestique par leur fœtus et par leurs excréta génitaux pendant au moins cinq semaines après qu'elles ont contracté l'infection, et alors qu'on pourrait les croire sans danger pour leur entourage.

Sur le comportement à l'égard du virus pestique
des veaux
nés de parents activement immunisés contre la peste.

1° VEAUX DONT LA MÈRE A ÉTÉ TOUCHÉE PAR LE VIRUS PESTIQUE
AU COURS DE LEUR VIE FŒTALE.

Nous avons mentionné plus haut qu'à la suite d'une contamination accidentelle de notre élevage, nous avons soumis à

la séro-infection les animaux du troupeau restés indemnes ; depuis cette époque nous avons développé le troupeau de vaches de la station ; toutes les vaches que nous y avons envoyées pour cela ont été immunisées au préalable par séro-infection ; un certain nombre de celles qui étaient en gestation au moment de l'opération ont avorté ; nous avons infecté un certain nombre de veaux des autres par inoculation de sang virulent lorsqu'ils atteignaient un an ; nos observations ont ainsi porté sur un total de 47 veaux.

28 de ces veaux étaient nés de vaches séro-infectées entre le dixième jour et le cinquième mois de la gestation ; 14 ont fait à la suite de l'inoculation virulente une peste grave ou assez grave, 14 une peste de faible intensité.

Les 19 autres veaux étaient issus de vaches séro-infectées du sixième au neuvième mois de la gestation ; 7 ont fait une peste grave ou assez grave, 12 une peste sans gravité.

Mais il y avait lieu de s'assurer que les mères de ces veaux avaient été effectivement touchées par le virus pestique lors de la séro-infection ; nous l'avons fait en soumettant, à l'inoculation du sang virulent, 11 de ces vaches, six ans après la séro-infection ; aucune d'elles n'a manifesté le moindre trouble ; au surplus, leur résistance s'est trouvée confirmée récemment ; une contamination accidentelle ayant atteint les veaux du troupeau, un grand nombre d'entre eux ont été frappés de peste ; les vaches ont été exposées à la contamination pendant plusieurs semaines et aucune de celles dont il s'agit n'a été troublée.

Il résulte de ces observations que, contrairement à ce que l'on pourrait penser, lorsqu'une femelle est touchée par le virus pestique au cours d'une gestation, et touchée assez intimement pour acquérir de ce fait une solide immunité contre la peste, si elle n'avorte pas, son petit se montre réceptif à l'âge d'un an. Deux explications de cette particularité viennent à l'esprit : ou bien le virus n'atteint pas le fœtus, ou bien pendant sa vie fœtale le jeune animal est indifférent au virus pestique.

2° VEAUX NÉS DE PARENTS QUI ONT ÉTÉ IMMUNISÉS ANTÉRIEUREMENT.

Dans les expériences suivantes, nous avons employé des veaux dont le père et la mère avaient été séro-infectés quelques années avant ; la résistance de leurs parents à la peste était complète ainsi qu'on l'a vérifié.

a) Effets de l'inoculation du virus.

4 veaux de trois mois ont reçu chacun, dans des expériences distinctes, 2 cent. cubes de sang virulent; 3 d'entre eux n'ont présenté dans la suite aucun trouble, le quatrième a fait une forte fièvre de quinze jours sans plus.

2 des veaux qui n'avaient pas réagi et le dernier mentionné ont été éprouvés vers dix-sept mois par injection de 3 cent. cubes de sang virulent; les 2 premiers ont fait la peste, le dernier est resté indemne.

3 veaux de six mois ont été traités de la même manière et séparément; ils ont réagi nettement tous 3 à la première inoculation de virus (fièvre, signes généraux et spéciaux), mais ont guéri rapidement; éprouvés vers dix-huit mois, ils n'ont présenté consécutivement aucun trouble.

Enfin, 2 veaux de neuf mois ont été également inoculés avec du sang virulent; l'un a contracté une peste mortelle, l'autre a fait une maladie caractérisée mais dont il a guéri; éprouvé à dix-neuf mois, il n'a manifesté cette fois aucun trouble.

b) Effets de la contamination.

Cette observation a été faite dans l'élevage de l'Institut Pasteur à la suite d'une contamination accidentelle résultant probablement de l'introduction dans le troupeau d'un animal incomplètement guéri; l'effectif des veaux nés de parents immunisés, mais n'ayant jamais subi eux-mêmes aucun traitement spécial contre la peste, comprenait 114 sujets de moins de trois mois, 120 ayant de trois à six mois et 85 ayant de six à neuf mois; tous ces animaux ont été exposés pendant plusieurs jours à la contamination et dans des conditions qu'une promiscuité étroite et constante avec les malades rendait particulièrement sévères. La maladie a frappé 4 veaux de moins de trois mois (soit 3,5 p. 100), 18 veaux ayant de trois à six mois (soit 15 p. 100), 39 veaux ayant de six à neuf mois (soit 45,8 p. 100).

c) Effets de la séro-infection.

On a soumis à la séro-infection (en faisant usage d'un sérum très actif) 6 veaux âgés respectivement de un, trois, cinq, sept, neuf et onze mois; aucun d'eux n'a réagi.

Ultérieurement, on les éprouve par inoculation avec du sang virulent pur; les inoculations sont échelonnées de manière que chaque animal soit éprouvé entre douze et quinze mois; le premier (séro-infecté à deux mois) fait une maladie grave; le deuxième (séro-infecté à trois mois) une maladie mortelle, les suivants une maladie caractérisée par de la fièvre et de légers signes cliniques; le dernier (séro-infecté à onze mois) ne présente aucun trouble.

De ces expériences, nous concluons brièvement de la manière suivante :

1° *Le virus pestique est généralement sans action sur les veaux qui sont issus de parents séro-infectés et qui n'ont pas dépassé*

l'âge de trois mois; il les atteint presque sûrement entre trois et six mois.

2° La séro-infection ne donne aux mêmes veaux la solide immunité qui la caractérise, qu'à partir de l'âge de dix mois environ; avant l'âge de trois mois, elle est pratiquement inopérante.

Sur la durée de l'immunité conférée par la séro-infection.

A quelques exceptions près, les auteurs qui ont été étudiés cette question considèrent que la résistance donnée aux animaux par la séro-infection se maintient entière pendant plusieurs années. Piot-Bey notamment, dont les constatations ont été rigoureusement établies, tire de ses observations la conclusion que les sujets immunisés par ce procédé restent sûrement réfractaires à la peste pendant près de neuf ans et donc vraisemblablement pour toute leur existence.

Nous avons recueilli sur ce sujet quelques indications précises en ce qui concerne le bétail d'Indo-Chine; les voici succinctement :

ÉPREUVE PAR INOCULATION EXPÉRIMENTALE.

a) Pour évaluer la durée de l'immunité conférée par la séro-infection, nous avons traité par le procédé, en 1924, 45 bovidés annamites âgés de un à sept ans; ces animaux ont tous réagi nettement quoique sans présenter de troubles graves; nous ajouterons que trois jours après la séro-infection chacun a reçu à nouveau 1 cent. cube de sang virulent.

Après l'opération, tous ces sujets ont été groupés en un troupeau que nous tenions à l'abri de la contamination; il n'y a d'ailleurs pas eu un seul cas de peste bovine dans tout le Sud-Annam depuis cette époque.

Chaque année, on ramène au laboratoire 2 ou 3 de ces animaux qu'on éprouve par inoculation avec 5 cent. cubes de sang virulent; la dernière épreuve, celle de 1930, a touché par conséquent des animaux séro-infectés il y a six ans. Jamais encore nous n'avons observé la moindre réaction lors de l'épreuve.

b) Les expériences, dont il s'agit maintenant, ont été entreprises plus récemment, mais elles concernent 9 animaux chez lesquels, à la suite de la séro-infection, aucune manifestation morbide n'a été observée, et qui n'ont pas même présenté de réaction thermique; de plus, contrairement à ce qui a été fait pour les animaux de l'expérience précédente, on n'a pas injecté de virus dans les jours qui ont suivi la séro-infection.

3 de ces animaux ont été éprouvés un an après la séro-infection, 4 après vingt mois et 2 après deux ans; aucun n'a présenté la moindre réaction.

Ces 9 essais, tous et entièrement concordants, montrent nettement que la séro-infection peut entraîner une immunité très solide et durable sans avoir provoqué de réaction; nous ne pensons pas que soit rigoureusement valable à l'égard du bétail annamite l'opinion des auteurs anglais qui pensent que lorsque la réaction est « bloquée », l'immunité ne s'établit pas.

ÉPREUVE PAR CONTAMINATION NATURELLE.

Il s'agit ici d'une observation qui a toute la valeur d'une expérience.

Celui des troupeaux de notre élevage, qui a été récemment contaminé de peste bovine, se composait de 1.260 animaux; parmi ceux-ci, 760 sujets, adultes surtout, mâles ou femelles, avaient été soumis à la séro-infection au cours de ces dernières années et 500 animaux, veaux de trois mois à dix-huit mois, pour la majorité, étaient réceptifs; tous ces animaux ont été exposés pendant plusieurs jours à la contamination et dans des conditions très sévères.

Parmi les 500 qui n'avaient reçu jusqu'alors aucun traitement, 162 ont contracté la maladie et 103 sont morts ou ont été abattus; parmi les 760 qui avaient été antérieurement séro-infectés, 3 ont contracté la maladie: 1 vache de demi-sang breton C-977, 1 vache de demi-sang de la Tarentaise C-981 et 1 vache de demi-sang d'Ongole n° 28; ces vaches avaient été séro-infectées, à l'âge de un an, deux ans plus tôt; les 2 premières avaient réagi à ce moment par une très légère hyperthermie, la troisième par des oscillations thermiques assez accusées pendant quinze jours; aucune d'elles n'avait été réinoculée avec du virus dans les jours suivants; l'une a succombé, les 2 autres ont guéri.

Il est à remarquer — et nous soulignons le fait — que dans ce groupe de près de 800 animaux séro-infectés, dont la majorité était formée de sujets de race annamite, les trois défaillances ont été observées chez des vaches métisses.

Remarque sur le mécanisme de l'immunisation après la séro-infection.

Les animaux, que l'on a soumis à la séro-infection, présentent assez souvent dans les jours suivants une réaction thermique et quelquefois des signes cliniques; il est manifeste que chez eux c'est une infection pestique qui évolue.

Nous avons vu que de tels sujets sont ensuite parfaitement à l'abri de la maladie et pour longtemps; doit-on les considérer comme également à l'abri de l'infection? oui, car lorsqu'on les éprouve par réinoculation avec des quantités même importantes de virus, on peut se rendre compte que leur organisme a perdu l'aptitude à cultiver ou même simplement à conserver le virus.

Voici à ce sujet une expérience que nous avons répétée plusieurs fois :

Les bœufs n° 720 et 747 ont été soumis à la séro-infection en 1924, ils ont réagi thermiquement.

En 1928, on injecte à chacun d'eux 1 cent. cube de sang virulent du four-nisseur de virus 375-E; ils ne manifestent aucun trouble.

Du quatrième au dixième jour, on prend à chacun d'eux 20 cent. cubes de sang chaque jour pour inoculer le veau DY; ce veau reste indemne; éprouvé ultérieurement par injection de sang virulent, il contractera la peste.

Mais nous avons vu d'autre part que, lorsque la séro-infection était effectuée dans de bonnes conditions, elle n'était suivie d'aucune réaction et laissait néanmoins une solide immunité; il y a lieu de se demander si, dans ce cas, les choses se passent comme chez les sujets qui réagissent à la double inoculation? L'expérience suivante répond affirmativement; elle montre que, lors de la séro-infection silencieuse, on peut encore mettre le virus en évidence dans l'organisme des sujets quelques jours après la double inoculation; mais que, par contre, à la suite de la réinoculation d'épreuve on ne l'y retrouve plus.

Le veau C-671 est soumis à la séro-infection; on lui injecte 1 cent. cube de sang virulent et 90 cent. cubes de sérum; il ne manifeste, dans la suite, aucun trouble. Six jours après l'opération, on lui prend 50 cent. cubes de sang qu'on inocule au veau 766, celui-ci fait la peste.

Un mois après, on injecte au veau C-761 10 cent. cubes de sang virulent, puis à partir du troisième jour et pendant une semaine, on lui prend chaque jour 50 cent. cubes de sang qu'on injecte au veau neuf 829. Aucun trouble chez cet animal; inoculé dans la suite avec du sang virulent, il fera la peste.

CONCLUSION. — *On peut considérer qu'après la séro-infection les animaux sont immunisés pour très longtemps, vraisemblablement pour toute leur vie, même lorsqu'ils n'ont répondu par aucun trouble visible à l'inoculation simultanée. Il semble que le virus pestique, introduit dans l'organisme en même temps que le sérum, produise généralement le même effet que le virus injecté seul; après la séro-infection comme après l'inoculation virulente simple, il s'établit chez presque tous les sujets un état d'insensibilité totale au virus pestique, état qui se traduit par l'inaptitude de l'organisme à cultiver ou à conserver ce virus lors des réinfections ultérieures.*

(Institut Pasteur de Nhatrang, Indochine.)

LES VACCINATIONS ANTIRABIKES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1931

par JULES VIALA.

Pendant l'année 1931, 531 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur de Paris : aucune mort n'a été signalée.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées	531
Mort	0
Mortalité p. 100.	0

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations depuis l'origine :

ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100	ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100
1886	2.671	25	0,94	1909	467	1	0,21
1887	2.770	14	0,79	1910	401	0	0,00
1888	1.622	9	0,55	1911	341	1	0,29
1889	1.830	7	0,38	1912	395	0	0,00
1890	1.540	5	0,32	1913	330	0	0,00
1891	1.559	4	0,25	1914	373	0	0,00
1892	1.790	4	0,22	1915	654	1	0,15
1893	1.648	6	0,36	1916	1.388	3	0,21
1894	1.387	7	0,50	1917	1.543	4	0,26
1895	1.520	5	0,38	1918	1.803	3	0,16
1896	1.308	4	0,30	1919	1.813	3	0,16
1897	1.529	6	0,39	1920	1.126	6	0,53
1898	1.465	3	0,20	1921	998	1	0,10
1899	1.614	4	0,25	1922	754	0	0,00
1900	1.420	4	0,28	1923	727	0	0,00
1901	1.321	5	0,38	1924	764	1	0,14
1902	1.005	2	0,18	1925	782	0	0,00
1903	628	2	0,32	1926	634	0	0,00
1904	755	3	0,39	1927	639	0	0,00
1905	721	3	0,41	1928	671	0	0,00
1906	772	1	0,13	1929	542	0	0,00
1907	786	3	0,38	1930	589	0	0,00
1908	524	1	0,19	1931	531	0	0,00

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories :

Catégorie A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Catégorie B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Catégorie C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition entre ces catégories des personnes traitées en 1931 :

ANNÉE 1931	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100
Catégorie A. .	6	0	0	35	0	0	8	0	0	49	0	0
Catégorie B. .	7	0	0	125	0	0	80	0	0	212	0	0
Catégorie C. .	12	0	0	139	0	0	119	0	0	270	0	0
	25	0	0	299	0	0	207	0	0	531	0	0

Les personnes se répartissent de la façon suivante, d'après le territoire sur lequel elles ont été mordues :

France.	527
Bulgarie.	2
Grèce	1
Roumanie.	1

Répartition par départements des 527 personnes traitées mordues en France.

Allier.	1	Charente-Inférieure.	1
Ardennes.	6	Cher	3
Aube.	2	Corrèze.	1
Aveyron	3	Corse.	2
Calvados	2	Côtes-du-Nord.	4
Charente	1	Creuse	5

Doubs	1	Oise	3
Eure	6	Orne	16
Eure-et-Loir	3	Pas-de-Calais	3
Finistère	2	Puy-de-Dôme	14
Garonne (Haute-)	1	Pyrénées (Basses-)	1
Ille-et-Vilaine	32	Rhône (Bouches-du)	1
Indre	4	Saône (Haute-)	1
Indre-et-Loire	2	Saône-et-Loire	1
Loir-et-Cher	4	Sarthe	5
Loire-Inférieure	22	Savoie (Haute-)	1
Loiret	3	Seine	202
Lot	2	Seine-et-Marne	6
Lot-et-Garonne	1	Seine-et-Oise	63
Maine-et-Loire	1	Seine-Inférieure	28
Manche	12	Sèvres (Deux-)	1
Marne (Haute-)	2	Vendée	4
Mayenne	6	Vienne	5
Meurthe-et-Moselle	6	Vienne (Haute-)	3
Morbihan	9	Vosges	2
Nièvre	1	Yonne	6

Depuis 1911, l'Institut Pasteur a adopté la méthode de conservation en glycérine des moelles atténuées, introduite dans la pratique par A. Calmette.

On se sert de pots-bans d'une contenance de 50 cent. cubes.

Dans chacun, on verse 25 cent. cubes de glycérine neutre à 30° B°.

On stérilise à 120°, pendant vingt minutes.

On laisse refroidir et on introduit dans chaque pot-ban quelques fragments de moelles préalablement desséchées dans un flacon de potasse, d'après la méthode initiale de Pasteur.

Dans chaque flacon contenant la glycérine on met plusieurs fragments de moelle dont la longueur totale peut atteindre 5 centimètres.

On conserve ces flacons à la glacière aux environs de + 4°.

Pour éviter l'infection de la moelle chez les lapins paralysés et agonisants, on place ces derniers dans une enceinte maintenue à 0°.

Sitôt qu'ils sont morts, on extrait la moelle par la méthode d'Oshida, au moyen d'un mandrin métallique nickelé, stérile.

On n'utilise, pour la vaccination des personnes mordues, que des moelles ayant séjourné moins de vingt jours en glycérine, l'expérience ayant démontré que le degré d'atténuation de chaque moelle n'est pas sensiblement modifié pendant les vingt premiers jours. Chaque sujet en traitement reçoit environ, journal-

lement, 2 à 3 millimètres de moelle triturée dans 3 centimètres cubes d'eau distillée stérilisée.

Le virus fixe de passage actuellement utilisé est le même que celui dont on s'est toujours servi depuis la création du service de vaccinations antirabiques, d'abord rue d'Ulm, et ensuite (à partir de 1888) à l'Institut Pasteur.

Il convient de signaler que, depuis le 19 août 1911, les inoculations de passage du virus fixe sont toujours effectuées, non plus avec le bulbe frais de lapin rabique, mais avec le bulbe conservé depuis au moins quarante-huit heures en glycérine à la glacière.

Depuis que cette technique a été adoptée, nous n'avons jamais constaté de modifications dans les délais d'incubation de la maladie après inoculation sous la dure-mère.

Nous reproduisons ci-après le schéma des traitements suivis par les mordus, suivant la gravité de leurs morsures.

Injectons antirabiques.

1 ^{er} jour	Moelle de 5 jours	} 3 cent. cubes <i>Morsures</i> <i>légères.</i>
2 ^e —	— 5 —	
3 ^e —	— 4 —	
4 ^e —	— 4 —	
5 ^e —	— 3 —	
6 ^e —	— 3 —	
7 ^e —	— 4 —	
8 ^e —	— 3 —	
9 ^e —	— 2 —	
10 ^e —	— 3 —	
11 ^e —	— 3 —	
12 ^e —	— 2 —	
13 ^e —	— 3 —	
14 ^e —	— 3 —	
15 ^e —	— 2 —	
16 ^e jour	Moelle de 4 jours	} 3 cent. cubes <i>Morsures</i> <i>multiples.</i>
17 ^e —	— 3 —	
18 ^e —	— 2 —	
19 ^e jour	Moelle de 3 jours	} 3 cent. cubes <i>Morsures</i> <i>graves.</i>
20 ^e —	— 3 —	
21 ^e —	— 2 —	
22 ^e jour	Moelle de 3 jours	} 3 cent. cubes <i>Morsures</i> <i>à la tête.</i>
23 ^e —	— 3 —	
24 ^e —	— 2 —	
25 ^e —	— 2 —	

Le Gérant : G. MASSON.

